



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

PROGRAMA DE CONSERVAÇÃO *EX SITU* DE *LYNX PARDINUS* (TEMMINCK, 1827): AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO PROTOCOLO DE MEDICINA PREVENTIVA NO CONTROLO DA CARGA PARASITÁRIA NO LINCE IBÉRICO E SUA PRESA *ORYCTOLAGUS CUNICULUS* (LINNAEUS, 1758) NO CENTRO NACIONAL DE REPRODUÇÃO DO LINCE IBÉRICO, EM PORTUGAL

SALOMÉ FREIRE CARREIRA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutor José Augusto Farraia e Silva  
Meireles

Mestre Rodrigo Calado da Cunha Serra

ORIENTADOR

Mestre Rodrigo Calado da Cunha Serra

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2018

LISBOA





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PROGRAMA DE CONSERVAÇÃO *EX SITU* DE *LYNX PARDINUS* (TEMMINCK, 1827): AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO PROTOCOLO DE MEDICINA PREVENTIVA NO CONTROLO DA CARGA PARASITÁRIA NO LINCE IBÉRICO E SUA PRESA *ORYCTOLAGUS CUNICULUS* (LINNAEUS, 1758) NO CENTRO NACIONAL DE REPRODUÇÃO DO LINCE IBÉRICO, EM PORTUGAL

SALOMÉ FREIRE CARREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutor José Augusto Farraia e Silva  
Meireles

Mestre Rodrigo Calado da Cunha Serra

ORIENTADOR

Mestre Rodrigo Calado da Cunha Serra

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2018

LISBOA

*“The question is, are we happy to suppose that our grandchildren may never be able to see an elephant except in a picture book?”*

Sir. David Attenborough



## **Agradecimentos**

Começo por agradecer ao Instituto de Conservação da Natureza e Florestas (ICNF) por ter permitido a realização deste trabalho, ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho e ao Dr. Rodrigo Serra por me terem aceitado como sua orientada e por todos os ensinamentos pessoais e profissionais transmitidos. Uma nota especial ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho por me ter introduzido à medicina da conservação e ao Dr. Rodrigo Serra pela aprendizagem transmitida sobre a manutenção de um programa de conservação e em particular, sobre o lince ibérico.

Um sincero obrigado ao Professor Telmo Nunes por me ter transmitido os seus conhecimentos sobre estatística e pela sua dedicação e vontade de atender todos os alunos que lhe chegam à porta.

Muito obrigada à Dra. Lúdia Gomes por me ter assistido diversas vezes ao longo do estágio e pela sua paciência com todos os alunos.

Um profundo e enorme obrigado a toda a equipa do CNRLI pela informação partilhada, pela constante disponibilidade, ajuda e boa disposição em todas as etapas de trabalho no Centro. Obrigado em particular ao Dr. Miguel Lajas e ao tratador Tiago Lopes por terem atendido as minhas dúvidas mais interiores.

A todos os voluntários e estagiários que partilharam comigo a estadia no Centro Nacional de Reprodução do Lince ibérico (CNRLI) - António Crespo, Inês, Patry, Lila, Sofia, Isabel, Ana, Suzana, Ricardo, Tomás, Renato, Daniela, Rino, Kasja, Maria, Robert e Bia- um obrigada gigante por me transmitirem amizade e carinho todos os dias, por todas as experiências que partilharam, por todos os bons momentos de trabalho e pela força transmitida diariamente.

Suzana Belvilacqua, tu que te tornaste minha irmã, ensinaste-me a apreciar a vida e a ver o lado bom em todas as coisas, ensinaste-me a rir e fazer rir, ensinaste-me a sonhar e a ter vontade de voar, ensinaste-me que a amizade não se cobra e que quem gosta fica. Obrigada por tudo.

Aos meus colegas de faculdade, a toda a minha turma C e em especial às “Queridas” por terem partilhado comigo os piores e os melhores momentos. À Rita Cameira por viver comigo a paixão pela conservação e pelos animais selvagens, à Patrícia Fernandes e especialmente à Florianne Neves por toda a ajuda desde o primeiro dia nesta faculdade, à Ana Seco por me acompanhar desde o primeiro ano, à Sara Meireles um profundo e enorme agradecimento por ter entrado na minha vida. A ela devo a minha força nos momentos mais desesperantes deste curso, devo o meu sorriso nos momentos pessoais mais difíceis, devo os desabafos partilhados, o alívio por cada ano ultrapassado e todos os bons momentos inesquecíveis. Estaremos “sempre juntas”.

Às minhas amigas de Leiria e em concreto ao Márcio, Francisco e Brian por terem acompanhado este processo de perto e me terem apoiado.

Um gigante obrigado à Ana Figueiredo por toda a amizade, por todas as palavras de encorajamento, por toda a informação transmitida, pela sua inteira disponibilidade e pela boa disposição que me contagiou desde o primeiro dia.

A toda a minha família por me ter ajudado, por ter sempre compreendido e apoiado a minha decisão de ser médica veterinária e por toda a paciência ao longo deste curso.

Em último, não menos importante, aos meus animais, aos que já foram e aos que estão, por me terem ensinado que a lealdade quando verdadeira não pede nada em troca. É com eles e por eles que a medicina veterinária se tornou prioridade na minha vida.

À vida selvagem por me querer fazer trabalhar em Conservação, por me tornar mais forte e livre a cada dia, por me fazer amar e respeitar profundamente todas as formas de vida, por me fazer desejar a aventura e o inesperado como alimento do dia-a-dia.

Programa de conservação *ex situ* de *Lynx pardinus* (Temminck, 1827): avaliação da eficácia no protocolo de medicina preventiva no controlo da carga parasitária no lince ibérico e sua presa *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) no Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico, em Portugal.

### Resumo

O lince ibérico (*Lynx pardinus*) é um felino de porte médio endémico da Península Ibérica, classificado como “criticamente em perigo” em Portugal.

A nível nacional, a conservação *ex situ* acontece no Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico (CNRLI), no sul de Portugal (Silves).

Este estudo teve como principal objetivo a avaliação do protocolo de desparasitação incluído nas medidas preventivas do CNRLI.

O protocolo de desparasitação foi avaliado pela colheita de 308 amostras de fezes, 11 amostras de sangue e 13 amostras de pelo de lince e pela colheita de 108 amostras fecais do coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*). O coelho europeu é a principal fonte de alimentação deste felino tendo por isso potencial para lhe transmitir agentes parasitários, nomeadamente parasitas gastrointestinais.

Todas as amostras foram colhidas e analisadas no CNRLI, segundo técnicas coprológicas de sedimentação e flutuação, esfregaços sanguíneos e tricogramas, com um total de 440 amostras durante o período de outubro de 2016 a abril de 2017.

Os resultados revelaram uma limitada fauna parasitária nos exemplares do Centro assim como na sua principal presa, tendo sido observados dois oocistos do género *Eimeria* correspondentes a pseudoparasitismo no lince ibérico, na técnica coprológica de sedimentação simples.

Estes resultados permitiram-nos assumir a quase inexistência de elementos parasitários, comprovado pelas prevalências de infeção nulas ou muito reduzidas. A prevalência de parasitismo para *Eimeria* sp. foi de 0.65% e de hemoparasitas e ectoparasitas de 0%. As amostras dos coelhos não revelaram elementos parasitários apresentando por isso uma prevalência de 0% . Concluímos que as medidas de desparasitação estão adequadas ao Centro e que as regras de profilaxia contribuíram para a prevenção de doenças parasitárias no lince ibérico e no coelho europeu como sua presa principal.

**Palavras chave:** *Lynx pardinus*, *Oryctolagus cuniculus*, desparasitação, conservação *ex situ*, Portugal.



*Ex situ* conservation program of *Lynx pardinus* (Temminck, 1827): evaluation of efficacy of the preventive medicine protocol in the control of the parasite load in the Iberian lynx and its prey *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) in the national breeding centre of the Iberian lynx, in Portugal.

### **Abstract**

The Iberian lynx is a medium sized endemic feline from the Iberian Peninsula, considered as “critically endangered” in Portugal.

At national level, *ex situ* conservation is performed in the Iberian Lynx National Breeding Centre (CNRLI), in the south of Portugal (Silves).

This study aimed to the evaluation of the deworming protocol applied as a preventive measure at CNRLI.

Deworming protocol was evaluated after a collection of 308 faecal samples, 11 blood samples and 13 fur samples from *Lynx pardinus* and a collection of 108 European rabbit's (*Oryctolagus cuniculus*) faecal samples. *Oryctolagus cuniculus* is this feline's main source of food, having the potential to transmit parasitic agents, particularly gastrointestinal parasites.

All the samples were collected and analysed at the CNRLI, according to coprological techniques (faecal sedimentation and faecal flotation), blood smears and fur analysis with a total of 440 samples between october 2016 and april 2017.

Results showed a limited parasitic fauna in the centre felines, as in their main prey, since only two results were obtained from *Lynx pardinus* coprological diagnosis (faecal sedimentation), showing the presence of *Eimeria* sp. oocysts wich represents an example of pseudoparasitism in Iberian lynx.

These results let us assume almost the non-existence of parasitic elements, proved by nil or very residual infections. The prevalence for *Eimeria* sp. was 0,65%, for hemoparasites and for ectoparasites was 0% . The samples from rabbits did not show any parasitic elements therefore the prevalence displayed was 0%.

We concluded that the Centre deworming and ectoparasite control measures are appropriate and that implemented prophylaxis rules contribute to the parasitic diseases prevention in Iberian lynx and European rabbit as its main prey.

**key-words:** *Lynx pardinus*, *Oryctolagus cuniculus*, deworming, *ex situ* conservation, Portugal.

## Índice geral

Dedicatória .....	i
Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract .....	vi
Índice geral .....	vii
Lista de figuras .....	x
Lista de tabelas .....	xii
Lista de abreviaturas e símbolos .....	xiii
Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio .....	xv
I. Revisão bibliográfica .....	1
1.Introdução.....	1
2. Medicina da Conservação .....	2
2.1 Conceito de Medicina da Conservação .....	2
2.2 Implicações das doenças em espécies ameaçadas .....	2
2.3 Monitorização das doenças em espécies ameaçadas .....	3
2.4 <i>International Union for Conservation of Nature (IUCN)</i> .....	3
3. O Lince Ibérico.....	4
3.1 Evolução histórica .....	4
3.2 Características morfológicas .....	5
3.3 Fisiologia reprodutiva.....	6
3.4 Requisitos de habitat .....	7
3.5 Ecologia trófica .....	8
3.6 Maneio genético .....	9
3.7 Ameaças à Conservação .....	10
3.8 Projetos de Conservação .....	11
4. Conservação <i>in situ</i> .....	11
5. Conservação <i>ex situ</i> .....	12

5.1. Banco de Recursos Biológicos (BRB's).....	12
5.2. Centros de cria .....	13
6. Reintrodução: salvação de uma espécie em extinção.....	14
7. Outras espécies do género <i>Lynx</i> .....	16
7.1 Lince Euroasiático ( <i>Lynx lynx</i> , Linnaeus 1758) .....	16
7.2 Lince do Canadá ( <i>Lynx canadensis</i> , Kerr 1792) .....	17
7.3 Lince Vermelho ( <i>Lynx rufus</i> , Schereber, 1777) .....	18
8. O Coelho Europeu ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> , Linnaeus 1758) .....	19
9. Medicina preventiva.....	20
9.1 Atuações sanitárias .....	20
9.2 Colheita de amostras biológicas .....	21
9.2.1 Exames fecais .....	22
9.2.2 Esfregaços Sanguíneos .....	25
9.2.3 Tricogramas .....	26
10. Doenças parasitárias no Lince Ibérico .....	27
10.1 Parasitas gastrointestinais.....	27
10.2 Hemoparasitas .....	36
10.3 Ectoparasitas.....	39
11. Protocolo de desparasitação .....	42
12. Doenças parasitárias no Coelho Europeu.....	43
13. Medidas de higiene e biossegurança .....	48
II- Programa de conservação <i>ex situ</i> de <i>Lynx pardinus</i> (Temminck, 1827): avaliação da eficácia do protocolo de medicina preventiva no controlo da carga parasitária no lince ibérico e sua presa <i>Oryctolagus cuniculus</i> (Linnaeus, 1758) no Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico, em Portugal. ....	51
1. Objetivos do estudo .....	51
2. Área de estudo e amostragem.....	51
3. Material e métodos .....	52
3.1 Material .....	52
3.2 Métodos .....	52
3.2.1 Método de colheita no Lince Ibérico.....	52

3.2.2 Método de colheita no Coelho Europeu .....	54
4. Coprologias .....	55
5. Esfregaços sanguíneos.....	56
6. Tricogramas.....	57
7. Análise estatística.....	58
8. Resultados .....	59
9. Discussão.....	60
10. Limitações do Estudo .....	73
11. Conclusão .....	74
12. Considerações futuras .....	75
13. Bibliografia.....	76
14. Anexos.....	89

## Lista de figuras

Figura 1- <i>Lynx issiodorensis</i> (adaptado de Simón et al., 2012) .....	4
Figura 2- Lince ibérico em liberdade (adaptado de Vargas, Breitenmoser & Breitenmoser, 2009).....	5
Figura 3- Cria com cerca de 30 dias nascida no CNRLI (foto gentilmente cedida pela Dra. Joana Amil).....	6
Figura 4- Floresta mediterrânica (adaptado de Costa, 2009) .....	7
Figura 5- Fêmea adulta com coelho selvagem recém capturado (adaptado de <i>Grupo de manejo en cautividad del lince ibérico</i> , 2015) .....	8
Figura 6- Reintrodução do lince ibérico (adaptado de Silva, 2014).....	15
Figura 7- Lince euroasiático adulto (adaptado de Pérez, 2012). .....	16
Figura 8- Lince do Canadá (adaptado de Pérez, 2012) .....	17
Figura 9- Lince vermelho (adaptado de Pérez, 2012) .....	18
Figura 10- Crias de lince bérico e coelho europeu (adaptado de Lynxexsitu, 2017).....	19
Figura 11- Exame sanitário a um lince ibérico em cativeiro (adaptado de GMSLI, 2014) .....	21
Figura 12- Métodos de concentração de fezes (adaptado de Fonseca, 2008) .....	23
Figura 13- Amostras fecais colhidas por tratadores do CNRLI (foto original). .....	24
Figura 14- Ovos de <i>T. canis</i> , <i>T. cati</i> e <i>T. leonina</i> , da esquerda para a direita na ampliação 40x (adaptado de Thienpont et al., 1986). .....	29
Figura 15- Ovos de <i>Taenia</i> spp., na ampliação 40x (adaptado de Bowman, 2014).....	31
Figura 16- Ovo de <i>Eucoleus aerophilus</i> na ampliação 40x (adaptado de Bowman, 2014) .....	32
Figura 17- Larva rabditoide <i>Strongyloides stercoralis</i> em amostra fecal, na ampliação 40x (segundo Jorge, 2013).....	35
Figura 18- Mycoplasma sp. na ampliação 100x (segundo Compion, 2014).....	37
Figura 19- Ciclo de vida de <i>Cytauxzoon felis</i> (adaptado de Tarigo et al., 2013) .....	37
Figura 20- <i>Ehrlichia</i> sp. dentro do neutrófilo, na ampliação 100x (segundo Lazarchick & Post, 2008).....	38
Figura 21- Ixodídeo na zona perianal de um lince ibérico (segundo GMSLI, 2014) .....	39
Figura 22- <i>Felicola isidoroi</i> (macho), vista dorsal (adaptado de Pérez et al., 2013) .....	41
Figura 23- <i>Hippobosca longipennis</i> (adaptado de Rani, Coleman, Irwin & Traub, 2011).....	41
Figura 24- Dermatomicose num exemplar juvenil (segundo GMSLI, 2014) .....	41
Figura 25- Ciclo de vida de <i>Eimeria</i> spp. (adaptado de Serrano, 2015). .....	44
Figura 26- Oocisto de <i>Eimeria</i> spp. em amostra fecal na ampliação 40x (adaptado de Sahinduran, 2012).....	45
Figura 27- Ciclo de vida de <i>Encephalitozoon cuniculi</i> (adaptado de Valente, 2009). .....	46
Figura 28- Oocistos não esporulados de <i>T. gondii</i> (adaptado de Dubey, Lindsay, & Lappin, 2009).....	47
Figura 29- Pedilúvio à entrada da cozinha (foto original). .....	49
Figura 30- A: carne de coelho embalada, B: carne de frango embalada, C: preparação da medicação oral (fotos gentilmente cedidas pelo tratador Tiago Lopes) .....	50
Figura 31- CNRLI (foto gentilmente cedida pelo estagiário Tomás Martins).....	51
Figura 32- A: amostra fecal, B: amostra de sangue, C: amostras de pelo (fotos originais). .....	53
Figura 33- A: Amostras de fezes (foto original); B: Instalação das presas vivas (foto gentilmente cedida pelo tratador Tiago Lopes). .....	54
Figura 34- A: Amostras de lince em tubo de ensaio; B: Lâmina pronta para observação (fotos originais). .....	55
Figura 35- A: Técnica do esfregaço (adaptado de Zajac & Conboy, 2012); B: Coloração Diff-Quick ® (foto original).....	56

Figura 36- A: Tração do pelo com pinça mosquito (adaptado de Guaguère, 2006); B: Lâmina com lactofenol azul (foto original). .....	57
Figura 37- A: Oocisto esporulado de <i>Eimeria</i> sp.; B: Oocisto não esporulado de <i>Eimeria</i> sp.; C: Ovo de ácaro; D: Nematode de vida livre (forma adulta) (fotos originais).....	59
Figura 38- A: Oocisto de <i>Eimeria</i> sp; B: Oocisto de <i>Cystoisospora</i> sp. (adaptado de Leclaire & Faulkner, 2014).....	60
Figura 39- A: Nematode de vida livre; B: Ovo de ácaro de vida livre (adaptado de Zajac & Conboy, 2012). .....	68

## Lista de tabelas

Tabela 1- Número de animais reintroduzidos de 2011 a 2017 (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Francisco Villaespesa Sánchez).....	15
Tabela 2- Presas consumidas nos cercados do CNRLI entre 2015/16 (tabela gentilmente cedida pela tratadora Vanessa Requeijão) .....	63
Tabela 3- Quadro clínico de exemplares do CNRLI em 2016/17 (tabela gentilmente cedida pela Dra. Joana Amil) .....	67
Tabela 4- Exemplo de desparasitações das fêmeas no CNRLI (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Miguel Lajas).....	71
Tabela 5- Exemplo de desparasitações dos machos no CNRLI (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Miguel Lajas).....	71

## Lista de abreviaturas e símbolos

%- por cento

® - marca registada

AAVP- *American Association of Veterinary Parasitologists* (Associação Americana de Parasitologistas Veterinários)

Ac- Anticorpo

AZA- *Association of Zoos & Aquariums* (Associação de Zoos e Aquários)

BRB's- Banco de Recursos Biológicos

CDC- *Centers for Disease Control and Prevention* (Centro para o Controlo e Prevenção de Doenças)

CM- Coelho morto

CNRLI- Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico

CR-*Critically endangered* (Criticamente em perigo)

CV- Coelho vivo

DD- *Data deficient* (Informação insuficiente)

DGAV- Direção Geral de Alimentação e Veterinária

EAZA- *European Association of Zoos and Aquaria* (Associação Europeia de Zoos e Aquários)

EDTA- Ácido etilenodiamino tetra-acético

EMA- *European Medicine Agency* (Agência Europeia do Medicamento)

EN- *Endangered* (Em perigo)

EPI- Equipamento de proteção individual

EW- *Extinct in the wild* (Extinto na natureza)

EX- *Extinct* (Extinto)

FeLV- Vírus da leucemia felina

FMV-UL – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

GAASLI- *Grupo Asesor de Aspetos Sanitários del Lince Ibérico* (Grupo Assessor de aspetos sanitários do lince ibérico)

GMSLI- *Grupo de manejo sanitario del lince ibérico* (Grupo de Maneio Sanitário do Lince Ibérico)

g- grama

ha. – Hectare

HACCP- *Hazard Analysis and Critical Control Points* (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos)

HD- Hospedeiro definitivo

HI- Hospedeiro intermediário

HP- Hospedeiro paraténico

IA- Inseminação Artificial

ICNF- Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas

Ig- Imunoglobulina

IUCN- *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (União Internacional para a Conservação da Natureza e Recursos Naturais)

kg- Quilograma

LC- *Least concern* (Pouco preocupante)

MgSO<sub>4</sub>- Sulfato de magnésio

ml- mililitro

MO- microscópio ótico

NaCl- Cloreto de sódio

NaNO<sub>3</sub>- Nitrato de sódio



NE- *Not evaluated* (Não avaliado)  
NT-*Near threatened* (Quase ameaçado)  
°C- graus Celsius  
OPG- Ovos por grama de fezes  
RSG- *Re-introduction Specialist Group* (Grupo de Especialistas em Reintrodução)  
SC- Subcutânea  
SSC- *Species Survival Comission* (Comissão de Sobrevivência das Espécies)  
TR- Treino de Reintrodução  
UE- União Europeia  
VU- *Vulnerable* (Vulnerável)  
VV- Videovigilância  
WWF- *World Wildlife Fund for Nature* (Fundo Mundial para a Natureza)

## **Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio**

O estágio curricular decorreu no CNRLI em Silves durante o período de 18 de setembro de 2016 a 29 de abril de 2017.

Este estágio foi realizado no âmbito da área de sanidade animal, sob a orientação do Mestre e Diretor do Centro de Silves, Dr. Rodrigo Calado da Cunha Serra e coordenação do Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho. Este é o único Centro português incluído numa rede de cinco Centros destinados à reprodução em cativeiro do lince ibérico.

Durante o período de estágio a aluna realizou funções na equipa de videovigilância (VV) e deu apoio nas intervenções médico veterinárias.

Na VV, a aluna fez rotações nos três turnos de oito horas de trabalho, das 07:00 às 15:00, das 15:00 às 23:00 e das 23:00 às 07:00. A VV foi realizada com o acompanhamento dos videovigilantes do CNRLI, através de câmaras colocadas nos cercados que permitem uma observação contínua dos animais. A atividade dos lince é registada pelo método de varrimento, ou *scan*, durante 24 horas e 365 dias por ano. Esta ferramenta é extremamente importante num Centro de reprodução em cativeiro na medida em que nos permite aprofundar e adquirir novos conhecimentos sobre o comportamento dos animais, sobre a sua rotina diária, os perigos mais comuns a que estão expostos, as situações mais específicas para os tratadores e a deteção precoce de problemas de saúde.

No momento em que os tratadores fazem o manejo diário é importante que o videovigilante esteja atento para tentar perceber a resposta do animal ao manejo, pois nem todos os animais respondem da mesma forma aos tratadores, tendo estes que adaptar o seu trabalho ao lince em questão. Os tratadores do Programa de Conservação *Ex Situ* seguem o mesmo protocolo com o objetivo de facilitar a troca de informação e conhecimento entre os vários Centros. O treino realizado deve ser constante e metódico de forma a proporcionar uma ligação de respeito e cooperação entre o animal e o tratador. O sucesso do treino irá facilitar o manejo e diminuir o stress para os exemplares em cativeiro, aumentando assim a sua qualidade de vida.

A aluna teve a oportunidade de assistir ao Treino de Reintrodução (TR) das ninhadas de 2016 e aos partos de 2017. O TR realiza-se todos os dias (exceto ao domingo) e baseia-se em colocar um coelho para cada cria no morouço de um cercado sem lince durante 24h, para as presas se adaptarem ao local e encontrarem proteção. Após esse período a ninhada de lince é transferida para o cercado e pode caçar.

Tanto as progenitoras como as crias são várias vezes mudadas de cercado como forma de enriquecimento ambiental e de adaptação ao seu futuro habitat natural. Com seis meses as crias são separadas da mãe sendo colocadas noutra cercado, dando oportunidade à fêmea de participar na próxima época reprodutiva.

Os partos são dos momentos mais marcantes num Centro de reprodução, pois significam o resultado de um ano de trabalho e dedicação. Durante a época reprodutiva de 2016/17 o CNRLI obteve 13 crias das fêmeas “Biznaga”, “Era”, “Jabaluna”, “Fresa” e “Flora”.

A aluna esteve ainda presente nos exames sanitários anuais dos adultos e nos exames sanitários das crias que estavam a ser preparadas para reintrodução. Durante os exames sanitários foi possível à aluna realizar tarefas como a colheita de sangue e a monitorização da recuperação anestésica.

Para além das atividades clínicas, assistiu à reintrodução de uma cria (“Nebraska”) em Espanha, à primeira inseminação artificial realizada no CNRLI, participou nas capturas das crias que seriam libertadas e no exame médico dos coelhos utilizados como presa viva.

A par de tudo isto foi desenvolvido no laboratório do CNRLI com o apoio do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-UL, a análise parasitológica das presas vivas e dos lince.

Ao trabalhar com uma espécie como o *Lynx pardinus* é importante perceber que a vida de cada animal tem um impacto bastante significativo no panorama de conservação global da espécie. Assim, todo o manejo efetuado no Centro é pensado de forma a assegurar o melhor para o futuro da espécie, desde garantir que os adultos reprodutores têm todas as condições para se reproduzir de forma natural, até permitir às crias o desenvolvimento de comportamentos naturais que lhes permitirão a sobrevivência nas populações selvagens.

## I. Revisão bibliográfica

### 1.Introdução

O lince ibérico (*Lynx pardinus*, Temminck 1827) é um felino endêmico da Península Ibérica pertencente à família Felidae, subfamília Pantherinae e ao género *Lynx* (Alderton 2003; Rodríguez & Calzada, 2015).

Esta espécie é caracterizada pela sua alta especialização nutricional e geográfica uma vez que se alimenta quase exclusivamente de coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*, Linnaeus 1758) e habita apenas zonas de floresta mediterrânica (Palomares, 2009).

Quando em 1986, a *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) classificou o *Lynx pardinus* como espécie “Ameaçada” existiam 1.100 exemplares. Em 2002, a população mundial batia um recorde crítico ao atingir os 200 animais. Tendo em conta estes números era imperativo criar novas populações selvagens e manter as já existentes (Geraldes, 2016).

Os esforços para recuperar esta espécie incluíram várias medidas de conservação *in situ* e *ex situ*. A nível *ex situ* foi iniciada a reprodução em cativeiro, a gestão genética e demográfica das populações, a gestão do Banco de Recursos Biológicos (BRB), a preparação de animais para reintrodução, a formação de profissionais e projetos de educação ambiental (Lynxessitu, 2017).

A conservação *ex situ* representa desta forma um “seguro de vida” contra a possível extinção desta espécie. As medidas implementadas permitiram um aumento do número de animais na natureza passando de 327 em 2014 para 483 em 2016 (Rocamora, 2009; Geraldes, 2017).

Para continuarmos o sucesso do programa, é essencial preservarmos a saúde da população em cativeiro (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015), aplicando normas de medicina preventiva, nas quais se destaca o protocolo de desparasitação (GMSLI, 2014).

As medidas de desparasitação pretendem prevenir e controlar doenças parasitárias de forma a evitar infeções parasitárias graves que podem desencadear e/ou acelerar o declínio de populações ameaçadas (Pérez, Sánchez & Palma, 2013).

A autora da presente dissertação procurou acompanhar durante o seu tempo de estágio a implementação do protocolo de desparasitação e de medidas higio-sanitárias para prevenção das parasitoses do lince ibérico ao nível do CNRLI.

## **2. Medicina da Conservação**

### **2.1 Conceito de Medicina da Conservação**

Em 1996 surgiu pela primeira vez o termo “Medicina da Conservação”. Este conceito representa uma tentativa de olhar para o mundo de forma global, reconhecendo que a saúde conecta todas as espécies (Aguirre, Ostfeld, Tabor, House & Pearl, 2002).

A importância da medicina da conservação reflete-se na pesquisa e trabalho contínuo das ciências biomédicas e veterinárias para fazer face aos desafios ecológicos atuais (Aguirre et al., 2002), nomeadamente a sexta maior extinção em massa de biodiversidade (Roy & Upadhyay, 2015).

Para que a Conservação tenha sucesso devemos aprender a pôr o nosso ego profissional de lado e encorajar a formação de equipas multidisciplinares. As vantagens desta abordagem são a perspetiva partilhada dos problemas permitindo-nos iniciar uma abordagem proactiva nas políticas de conservação. Só assim poderemos garantir às gerações futuras o privilégio de apreciar espécies tão emblemáticas como o lince ibérico (Aguirre et al., 2002).

### **2.2 Implicações das doenças em espécies ameaçadas**

As doenças fazem inevitavelmente parte da vida e têm o potencial para determinar o futuro de um indivíduo, a dinâmica de uma população e até a evolução de uma espécie (Loveridge & Macdonald, 2010).

A extinção de cães selvagens (*Lycaon pictus*) no Masai Mara, a perda de viabilidade das populações selvagens do Condor da Califórnia (*Gymnogyps californianus*) e do Toirão Americano (*Mustela nigripes*) são evidências claras de que as doenças contribuem em grande medida para a extinção das espécies (Aguirre et al., 2002).

Por definição, “doença” é um distúrbio das funções do organismo, de um sistema ou de um órgão e não necessariamente sinónimo de uma infeção bacteriana ou viral, infestação parasitária ou exposição a tóxicos. A ocorrência de doença depende da carga e da patogenicidade do agente assim como da condição fisiológica do hospedeiro (Aguirre et al., 2002).

Os agentes que afetam os felinos incluem artrópodes, helmintes, protozoários, vírus, bactérias ou fungos com capacidade para causar doença (Loveridge & Macdonald, 2010).

### 2.3 Monitorização das doenças em espécies ameaçadas

Nas últimas décadas, a investigação em programas de conservação tem apostado nas espécies que sofreram uma queda demográfica brusca e acentuada (Aguirre et al., 2002).

O seguimento destas populações deverá ser feito através da colheita de biomateriais (fezes, sangue, pelo, biópsias de pele) durante censos, translocações, check-ups, necropsias e outros procedimentos de controlo sanitário e gestão de populações (Aguirre et al., 2002).

É de destacar a importância de algumas espécies ameaçadas em programas de controlo e monitorização como as espécies “sentinelas” que correspondem a um (bio)indicador do meio ambiente e podem refletir a saúde das espécies que coabitam no mesmo habitat (Figueiredo, Oliveira, Madeira de Carvalho, Fonseca & Torres, 2016).

### 2.4 International Union for Conservation of Nature (IUCN)

A IUCN criou em 1964 um inventário de espécies ameaçadas com os critérios que definem o risco de extinção das espécies a nível global. Esse documento, designado *Red List of threatened species*, pretende informar sobre o estado das espécies e subespécies chamando a atenção do público para a importância da biodiversidade (IUCN, 2017).

Segundo este documento, as espécies são divididas por cinco critérios e nove categorias. Os critérios atribuídos classificam a espécie quanto à “População e tamanho da população”, “Subpopulações”, “Indivíduos maduros”, “Geração”, “Redução da população”, “Declínio continuado”, “Flutuação acentuada”, “Fragmentação elevada”, “Extensão da Ocorrência”, “Área de ocupação”, “Localização” e “Análise quantitativa” (IUCN, 2017).

As categorias correspondem a *Extinct* (EX), *Extinct in the wild* (EW), *Critically endangered* (CR), *Endangered* (EN), *Vulnerable* (VU), *Near threatened* (NT), *Least concern* (LC) *Data deficient* (DD) e *Not evaluated* (NE) (IUCN, 2012).

O lince ibérico encontra-se desde 2015 no estatuto de EN, após anos na categoria de CR (Geraldes, 2017) embora em Portugal permaneça no estatuto de CR uma vez que as causas que colocaram esta espécie em perigo podem não ter cessado, não ser compreendidas ou não ser reversíveis, e supõe-se que possam persistir no futuro (ICNF, 2017).

A próxima meta de sucesso para esta espécie será a classificação de VU até 2020 (Rocamora, 2009).

### 3. O Lince Ibérico

#### 3.1 Evolução histórica

O lince ibérico tem origem na linha evolutiva dos grandes carnívoros dos quais se separou há cerca de três milhões de anos (Iberlince, 2017). Nessa altura, a região a que hoje chamamos de Europa juntamente com a Ásia (Eurásia) recebia os primeiros lincos (*Lynx issiodorensis*) (Figura 1) vindos da América do Norte. Como resultado do período glacial que se atravessava juntamente com as exigências ecológicas da espécie, parte da população ficou isolada na região da Península Ibérica dando origem à forma mais primitiva do lince ibérico, a espécie *Lynx spalea* (Simón et al., 2012).

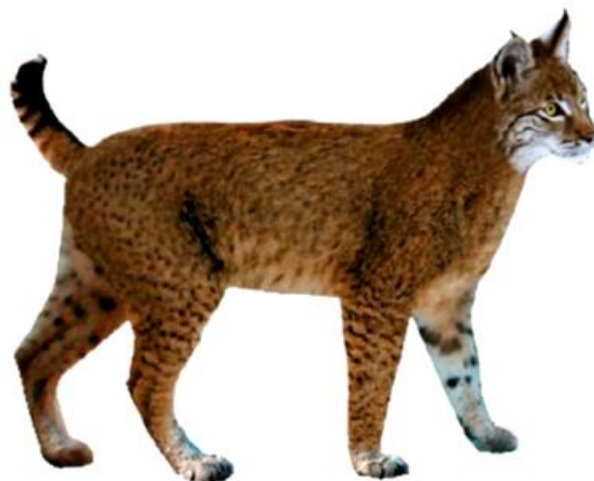
O lince ibérico era historicamente caçado pela sua pelagem, mas a maior ameaça foi desde sempre a alta especificidade na dieta e habitat (Garrote et al., 2013).

A paisagem mediterrânica sofreu grandes transformações na primeira metade do século XX devido à exploração pela indústria do carvão e pela utilização de terras para agricultura e pecuária.

A situação financeiramente difícil da altura favorecia a caça em grande escala dos coelhos para proveito económico, o que juntamente com o aparecimento de doenças virais diminuiu profundamente a população de lagomorfos, contribuindo para a redução do número de lincos (Simón et al., 2012).

No início do século XXI é realizado o primeiro censo com foto-armadilhagem e análise molecular de fezes confirmando a existência de apenas duas populações em *Sierra Morena Oriental* e *Doñana* com um máximo de 160 exemplares (*Grupo de manejo en cautividad del lince ibérico*, 2015).

Figura 1- *Lynx issiodorensis* (adaptado de Simón et al., 2012)



### 3.2 Características morfológicas

O felino ibérico caracteriza-se por ter barbas compridas, pincéis escuros na ponta das orelhas, cauda curta que termina com uma mancha escura e membros altos com extremidades largas (Figura 2) (Santos, 2016).

Este felino assemelha-se a uma pequena versão do lince euroasiático, com os machos a pesarem em média 12,8 quilogramas (kg) e as fêmeas 9,3 kg (Nowell & Jackson, 1996).

A pelagem do lince ibérico é uma forte característica desta espécie. Considera-se que existem três padrões de manchas (fenótipos), em que o primeiro corresponde a pequenas manchas pretas por toda a superfície do corpo, o segundo a manchas mais largas, geralmente alinhadas, e o terceiro a um padrão mais heterogéneo sendo uma mistura de ambos (Simón et al., 2012). O padrão de manchas de cada animal é único e funciona como uma impressão digital permitindo a identificação individual de cada exemplar (Santos, 2016).

As barbas crescem por volta dos 3-5 anos de idade e são bastante maiores que as do lince euroasiático (*Lynx lynx*) e do lince vermelho (*Lynx rufus*). Esta parte do corpo, assim como a cauda, possui uma função de comunicação intraespécie e interespécie (Simón et al., 2012).

A sua visão tridimensional é extremamente útil nas técnicas de caça, maioritariamente caracterizadas por emboscada ou corridas curtas e rápidas em perseguição da presa. A cor das íris varia entre avelã e verde pálido, com algumas diferenças individuais (Simón et al., 2012).. Os membros posteriores apresentam a conformação ideal para saltar grandes distâncias, uma adaptação morfológica para caçar coelhos e outras pequenas presas (Simón et al., 2012).

Figura 2- Lince ibérico em liberdade (adaptado de Vargas, Breitenmoser & Breitenmoser, 2009)





### 3.3 Fisiologia reprodutiva

Na matéria de reprodução, o programa *ex situ* estabeleceu valores como a maturidade sexual (machos aos 3 anos e fêmeas entre os 2 e os 3 anos), duração do estro (3-7 dias), número de cópulas por casal (n=28), intervalo de gestação (63-66 dias), tamanho médio da ninhada (n=2.5), intervalo médio de lactação (3.5 meses) e a idade em que as crias começam a ter sucesso nas técnicas de caça (80-140 dias) (Loveridge & Macdonald, 2010).

As fêmeas apresentam apenas um ciclo éstrico por época reprodutiva (monoéstricas) manifestando o estro entre dezembro e fevereiro. Na altura do cio, o macho segue a fêmea por um período de 48 a 72 horas, durante o qual ocorrem as cópulas. A gestação dura entre 63 a 65 dias, ocorrendo os partos normalmente entre março e abril (Bolacha, 2015).

As ninhadas variam entre 1-4 crias (Figura 3), embora na maior parte dos casos, apenas sobrevivam duas crias (Palomares, 2009).

Neste felino, o perfil de libertação de progestagéneos é mais longo do que nos restantes, em grande parte devido ao corpo lúteo se manter ativo durante períodos mais duradouros. Esta característica foi igualmente demonstrada no lince euroasiático (*Lynx lynx*) (Loveridge & Macdonald, 2010).

Figura 3- Cria com cerca de 30 dias nascida no CNRLI (foto gentilmente cedida pela Dra. Joana Amil)



### 3.4 Requisitos de habitat

O lince ibérico seleciona bosques e matos densos de características mediterrânicas, utilizando preferencialmente estruturas em mosaico com biótopos fechados para abrigo e outros abertos para captura de presas (Figura 4). Uma área com uma população residente caracteriza-se por cobertura arbustiva superior a 40% e uma proporção de matagal entre 60 a 70% do habitat disponível (Cabral et al., 2005).

Segundo a *World Wildlife Fund for Nature* (WWF) (2017), a mancha mediterrânica portuguesa é uma paisagem dominada pelo sobreiro, fator distintivo e mais-valia do país no plano florestal que alberga espécies raríssimas como o lince ibérico e a águia imperial.

O tamanho do território do lince ibérico varia entre 250-2100 hectares, dependendo de fatores como a abundância de alimento e o sexo do animal. Territórios com pouca abundância de coelhos ou com muita abundância de coelhos, mas com pouca vegetação não são adequados (Palomares, 2009). Quanto ao sexo, os machos tendem a ter territórios maiores que as fêmeas sendo que animais de sexos diferentes podem partilhar o mesmo território o que não acontece com animais do mesmo sexo. Apesar desta espécie ter tendência a ser monógama, alguns machos podem ter mais do que uma fêmea no seu território (Palomares, 2009).

Segundo os autores Cabral et al. (2005), os lince parecem evitar habitats artificializados particularmente campos agrícolas e plantações florestais, porém os autores Gaston et al., (2016) afirmam que a resposta ao uso de habitat depende largamente do tipo de cultivo e da vegetação original que ainda resta e que os lince em fase de dispersão (1-2 anos de idade) são mais adaptáveis a terrenos usados para fins agrícolas. Confirmam ainda que tanto o lince ibérico como outras espécies que dependem de vegetação são capazes de usar habitats mais heterogêneos do que anteriormente se pensava, devendo as áreas de reintrodução ser consideradas de forma mais ampla.

Figura 4- Floresta mediterrânica (adaptado de Costa, 2009)



### 3.5 Ecologia trófica

Palomares (2009) assume que o coelho representa 70% da biomassa ingerida por este carnívoro, seguindo-se a perdiz vermelha (9,7%), a lebre (6,3%) e um roedor de nome comum arganaz (5,6%). O tamanho dos coelhos consumidos varia ao longo do ano em função da sua abundância, sendo os coelhos jovens mais consumidos na primavera e verão do que no resto do ano (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

A alimentação em cativeiro deve tentar reproduzir a alimentação no habitat natural por isso nos Centros de cria a dieta é constituída por coelho de produção intensiva, coelho selvagem, perdizes, codornizes (presa viva), carne de frango, coelho e vitela (presa morta) (GMSLI, 2014).

Na gestão das populações selvagens, a suplementação com presa viva ocorre em situações de escassez de presas naturais e sempre sem impacto negativo sobre população de coelhos residentes (GMSLI, 2014).

De acordo com os autores López-Bao, Rodríguez e Palomares (2008), a escassez de presas compromete a sobrevivência de populações selvagens, principalmente dos predadores especialistas, tal como o lince ibérico. Por esta razão se considera realizar a suplementação de presas vivas à qual o lince ibérico responde positivamente usando 62% das instalações construídas para o efeito.

Esta associação íntima entre predador (lince ibérico) e presa (coelho europeu) é apenas observada no mosaico mediterrânico e como tal deve ser respeitada e protegida (Figura 5) (Simón et al., 2012).

Figura 5- Fêmea adulta com coelho selvagem recém capturado (adaptado de *Grupo de manejo en cautividad del lince ibérico*, 2015)



### 3.6 Maneio genético

As aplicações genéticas tornam-se cada vez mais uma ferramenta útil na manutenção de populações selvagens (Loveridge & Macdonald, 2010).

O lince ibérico é uma das espécies com menor diversidade genética em todo o mundo. Na verdade, este felino apresenta menor diversidade de genes que outras espécies de mamíferos como o diabo da tasmânia (*Sarcophilus harrisii*) ou de aves ameaçadas como o íbis japonês (*Nipponia nippon*) (Geraldes, 2016).

Os investigadores acreditam que esta erosão genética foi causada por três episódios de declínios graves nas populações de lince na Europa, ainda anteriores ao declínio demográfico do século XX (Geraldes, 2016).

Os objetivos a nível da genética no programa *ex situ* foram estabelecidos com base em recomendações fornecidas pelo grupo de especialistas em reprodução e conservação, o *Species Survival Commission* (SSC) (Lynxessitu, 2017).

O modelo populacional foi elaborado com auxílio do programa informático PM2000 que revelou ser impossível manter 90% da diversidade genética existente durante 100 anos, uma vez que a população selvagem não conseguiria resistir à extração de 12 exemplares anualmente, durante 5 anos. Simultaneamente, o programa sugeriu a viabilidade de manter 85% da diversidade genética nos próximos 30 anos. O resultado seria a gestão de 60 indivíduos (30 machos e 30 fêmeas) em cativeiro, como população fundadora. Este esquema deveria precisar de 4 exemplares (principalmente crias ou juvenis) por ano, durante 5 anos e um exemplar extra a cada 2 anos. Este nível de taxa de extração teria um impacto mínimo na viabilidade das populações selvagens (Lynxessitu, 2017).

O modelo proposto permitiu ao Programa atingir o objetivo de 60 indivíduos em 2009, com a reintrodução de animais criados em cativeiro a acontecer um ano mais tarde, em Andaluzia, Espanha (Lynxessitu, 2017).

### 3.7 Ameaças à Conservação

A conservação do lince ibérico é posta em causa pela redução e fragmentação de habitat, pela regressão das populações de coelho e pela mortalidade não natural (Cabral et al., 2005). A redução e fragmentação de habitat começaram quando o Homem se tornou o gerente do território, marcando o início do declínio da espécie (Simón et al., 2012).

Com o aparecimento da mixomatose em 1950 e da doença hemorrágica viral em 1990 as populações de coelho diminuíram drasticamente (Simón et al., 2012).

Na mortalidade não natural destacam-se os atropelamentos, a caça ilegal (Cabral et al., 2005) e os envenenamentos (Rocha & Sarmiento, 2015). Em *Doñana*, pelo menos 62% das mortes são causadas por atividades do tipo humano como o abate a tiro, as armadilhas e a caça com cães (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015). A caça ao lince ibérico foi proibida em 1969 em Espanha e em 1973 em Portugal (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015), porém a mortalidade devido à caça ilegal chegou a atingir cerca de 42% entre 1966 e 1995 (Neca, 2000).

Desde 2012 estima-se que 80% da população se encontre em propriedades privadas destinadas à caça do veado vermelho (*Cervus elaphus*), perdiz vermelha (*Alectoris rufa*) e coelho europeu (*Oryctolagus cuniculus*), tornando-se essencial o acordo entre proprietários e conservacionistas (Simón et al., 2012a).

Para além do acordo com os proprietários é igualmente importante planear medidas que evitem conflitos com produções familiares. Apesar deste felino não ter por hábito atacar o gado doméstico, o aumento do número de lince em áreas urbanizadas pode alterar este cenário. Em *Andújar-Cardena*, observou-se que paralelamente ao aumento da população de lince houve um aumento do número de ataques ao gado (Garrote et al., 2013).

A mortalidade natural assume menor peso, mas conta com diversas doenças e problemas de fertilidade (Cabral et al., 2005). Hoje assiste-se a uma crescente preocupação com estas doenças devido ao reduzido tamanho populacional, ao elevado contacto com espécies domésticas e à baixa variabilidade genética deste felino (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

De acordo com o censo de 2015, a principal causa de morte foi o atropelamento, seguido do furtivismo, doença, lutas e afogamento em poços (Geraldès, 2016).

### 3.8 Projetos de Conservação

A criação da Rede Natura 2000 pela União Europeia (UE) permitiu o financiamento de vários programas como o projeto europeu LIFE com a duração de 25 anos (1992-2017). Este projeto abraçou diferentes causas entre elas a conservação do lince ibérico e a preservação do seu habitat (*European Comisson*, 2017).

Em Portugal e Espanha iniciaram-se diversas medidas de apoio financeiro sob o nome de projetos como a “Recuperação da população do Lince ibérico em Andaluzia” (2002-2006), “Recuperação do habitat do Lince Ibérico no sítio Moura-Barrancos” (2006 a 2009), “LIFE Habitat Lince Abutre: Conservação do Lince Ibérico e do Abutre Preto no Sudeste de Portugal” (2010 a 2014) e “Iberlince: Recuperação da distribuição história do lince ibérico (*Lynx pardinus*) em Portugal e Espanha (2011-2017)” que decorre até ao fim de 2017 (*European Comisson*, 2017). Este projeto tem como principal objetivo a criação de novas populações através de reintrodução a curto prazo em áreas de Portugal, Extremadura, *Castilla-La-Mancha* e Andaluzia e a realização de ações preparatórias face à reintrodução a longo prazo em Múrcia (Iberlince, 2017).

### 4. Conservação *in situ*

De acordo com os autores Gastal e Saragoussi (2008) a conservação *in situ* é a conservação de ecossistemas e habitats naturais com a manutenção e recuperação de populações viáveis nos seus habitats.

No caso do lince ibérico, a conservação *in situ* é efetuada através da preservação dos habitats mediterrânicos e do fomento das populações de coelhos. Estas duas medidas são cumpridas pela colaboração de gestores agroflorestais e cinegéticos que atuam em áreas privadas com características adequadas à reprodução do lince ibérico (Rocha & Sarmiento, 2015).

O fomento das populações de coelho passa ainda por fornecer alimento e água suplementar, assim como a existência de abrigo para evitar a predação e permitir a reprodução do mesmo (Loureiro, Martins, Mouro & Santos, 2010). O estabelecimento de território para o lince ibérico requer no mínimo dois coelhos/ hectare (ha) (ICNF, 2014).

As várias medidas *in situ*, tanto em Portugal como em Espanha, pretendem melhorar as fontes de alimento para os lince, a redução da mortalidade não natural e natural, melhorar o acesso à água e otimizar os locais para reprodução desta espécie (Simón et al., 2012b).

## 5. Conservação *ex situ*

A expressão *ex situ* deve ser entendida como a conservação de componentes de diversidade biológica fora dos seus habitats naturais (Gastal & Saragoussi, 2008).

As populações *ex situ* são importantes para estudar a espécie e obter dados científicos que serão depois usados nas populações *in situ* (Loveridge & Macdonald, 2010).

O Plano de Reprodução em Cativeiro do Lince Ibérico surgiu em 2003 com a parceria do governo português, do governo espanhol e ainda do governo de Andaluzia. Este plano tem como objetivo manter uma condição genética e demográfica populacional que suporte a conservação *in situ*, através da educação da população, da pesquisa científica e de reintroduções (Lynxexsitu, 2017).

Tal como o lince ibérico, também outras espécies tiveram de passar por uma etapa de reprodução em cativeiro, como o lince euroasiático (*Lynx lynx*) e o gato selvagem europeu (*Felis silvestres silvestres*) (Loveridge & Macdonald, 2010).

Alderton (2003), alerta que os programas *ex situ* terão de ter conta vários obstáculos principalmente o financiamento e a gestão do espaço. Mesmo com um bom plano não haverá espaço para manter todos os animais em boas condições e continuar com programas de conservação viáveis.

Devemos concluir que, ainda que de extrema importância, os programas *ex situ* devem ser implementados como uma medida complementar a toda a estratégia de conservação e nunca como uma medida única de recuperação da espécie (Loveridge & Macdonald, 2010).

### 5.1. Banco de Recursos Biológicos (BRB's)

O banco de amostras do lince ibérico foi criado em 2005 através de uma parceria entre o Governo Regional de Andaluzia e o Instituto de Bioengenharia da Universidade de *Miguel Hernández de Elche* (Simón et al., 2012b).

Esta ferramenta é fundamental para o manejo genético de espécies ameaçadas uma vez que permite conservar biomateriais com o fim de evitar a perda de variabilidade genética (Crespo et al., 2007).

As amostras preservadas são colhidas durante procedimentos cirúrgicos, exames sanitários ou durante necropsias. Os biomateriais mais frequentemente conservados incluem sémen, embriões e óvulos (Crespo et al., 2007).

Durante os primeiros sete anos, foi possível a colheita de 3149 amostras biológicas obtidas de 237 lince, tanto de cativeiro como selvagens. Desta forma, a herança genética dos lince que morreram desde 2003 é mantida viva (Simón et al., 2012b).

## **5.2. Centros de cria**

Os Centros de cria são geridos pelo Grupo de Centros de Reprodução em Cativeiro, enquadrada na Estratégia Nacional de Conservação do Lince Ibérico. Existem cinco Centros de reprodução em cativeiro nomeadamente *El Acebuche*, *Zoobotânico de Jerez*, *La Olivilla*, CNRLI e *Zarza de Granadilla* (Lynxessitu, 2017).

O primeiro Centro a ser inaugurado foi *El Acebuche* em 1992, no Parque Nacional de *Donãna* que inicialmente tinha como objetivo reproduzir animais que devido à sua condição física, não estariam mais aptos para serem libertados na natureza. No entanto, anos mais tarde a Estratégia Nacional de Conservação do Lince Ibérico, reconheceu a necessidade de se formar um programa de cria em cativeiro (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

O *Zoobotânico de Jerez* localizado em *Cádiz*, assumiu a responsabilidade de pela primeira vez, de criar e incorporar crias de lince ibérico no programa. Foram criadas à mão as crias “Esperanza” (2001), “Aura”, “Saliega” (2002) e “Cromo” (2003) (Lynxessitu, 2017).

O Centro *La Olivilla* foi inaugurado em 2007, no Parque Natural de *Despeñaperros* em *Jaén* (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015). *La Olivilla* é o maior dos Centros com 23 cercados (Lynxessitu, 2017).

Seguiu-se o CNRLI em São Bartolomeu de Messines no ano de 2008 com 16 cercados (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015). O Centro nacional recebeu o primeiro animal em 2009, “Azahar”, uma fêmea proveniente do *Zoobotânico de Jerez* (Lynxessitu, 2017). O CNRLI representa assim a mais visível linha de colaboração entre Portugal e Espanha na estratégia de conservação do lince ibérico (Lynxessitu, 2017).

O Centro *Zarza de Granadilla* abriu no ano de 2011 em Cáceres e conta com o mesmo número de cercados que o CNRLI (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).



## **6. Reintrodução: salvação de uma espécie em extinção**

A IUCN (1998) define reintrodução como a tentativa de estabelecer uma população numa área que faz parte da sua distribuição geográfica histórica, mas na qual a espécie se encontre extinta.

As reintroduções devem seguir as diretrizes elaboradas pelo *Re-introduction Specialist Group* (RSG), entre as quais um estudo de viabilidade, a avaliação das causas que levaram a espécie à extinção, a qualidade e disponibilidade de habitat e a inclusão de questões económicas e legais (IUCN, 1998).

Os lince reintroduzidos são selecionados para determinada área segundo critérios genéticos e comportamentais com o objetivo de reforçar a genética das populações selvagens. Cada lince recebe uma coleira com um sistema VHS incorporado de forma a que seja possível localizá-lo na natureza (Sarmento, Carrapato, Eira & Silva, 2017).

Segundo Lopes-Fernandes e Frazão-Moreira (2017), as populações rurais são uma pedra basilar no sucesso das reintroduções, mas apesar das pessoas revelarem interesse e preocupação com a proteção da vida selvagem, não se vêem como parte integrante do processo.

A reintrodução deve acontecer numa área livre de outros lince, mas rodeada por territórios já ocupados de forma a promover as interações sociais com a população residente e prevenir a dispersão de indivíduos. Está comprovado que as interações sociais e a organização espacial dos indivíduos no território influenciam a reprodução e consequentemente a sobrevivência da espécie (Sarmento et al., 2017).

Em Portugal, a área que reuniu as melhores condições para as reintroduções foi o Vale do Guadiana graças às suas características de mosaico mediterrânico, ao tamanho da área e à elevada densidade de coelhos (ICNF, 2017). Em 2014, o Vale do Guadiana recebia os primeiros lince a serem reintroduzidos em Portugal, “Jacarandá” e “Katmandú”. A mesma fêmea daria à luz dois anos mais tarde, marcando o início das primeiras crias de lince na natureza nos últimos 40 anos (Geraldès, 2016).

Entre 2011 e 2017 foram reintroduzidos 185 animais como demonstrado pela Tabela 1. É importante referir que a informação referente às baixas (morte ou regresso ao cativeiro) foi proporcionada por diversos programas de conservação *in situ*, de acordo com o projeto LIFE Iberlince (F. Sánchez, comunicação pessoal, agosto 18, 2017).

Tabela 1- Número de animais reintroduzidos de 2011 até 2017 (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Francisco Villaespesa Sánchez).

Zona de libertação	*2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	TOTAL
<i>Guarrizas</i>	2 (0.2)	8 (4.4)	10 (6.4)	9 (3.6)	1 (1.0)	4 (0.4)	4 (1.3)	38 (15.23)
<i>Guadalmellato</i>	0	7 (2.5)	8 (3.5)	9 (5.4)	1 (0.1)	4 (0.4)	4 (1.3)	33 (11.22)
<i>Doñana</i>	0	0	1 (0.1)	0	0	0	0	1 (0.1)
<i>Matachel</i>	0	0	0	8 (5.3)	4 (1.3)	9 (4.5)	8 (4.4)	29 (14.15)
<i>Sierra Morena Oriental</i>	0	0	0	7 (4.3)	4 (1.3)	9 (5.4)	8 (4.4)	28 (14.14)
<i>Montes de Toledo</i>	0	0	0	5 (3.2)	6 (2.4)	10 (6.4)	8 (4.4)	29 (15.14)
<i>Valle del Guadiana</i>	0	0	0	2 (1.1)	8 (4.4)	9 (3.6)	8 (4.4)	27 (12.15)
<b>TOTAL</b>	2 (0.2)	15 (6.9)	19 (9.10)	40 (21.19)	24 (9.15)	45 (18.27)	40 (18.22)	185 (81.104)
<b>Baixas</b>	1 (0.1)	12 (5.7)	7 (7.0)	15 (8.7)	6 (2.4)	12 (1.11)	3 (2.1)	56 (25.31)

\*O ano representado corresponde apenas ao ano de reintrodução e não ao ano em que ocorreu a baixa.

Segundo o censo de 2016 existem 483 lince ibéricos na natureza, a maioria está nas populações de Andaluzia (Geraldès, 2017).

Rodríguez e Calzada (2015) afirmam que sem a introdução de novos animais na natureza irá assistir-se a um rápido declínio das populações de lince ibérico com extinção programada em 35 anos.

A chave para o sucesso da reintrodução de felinos nascidos em cativeiro será sempre encontrar um equilíbrio entre manter os comportamentos naturais da espécie (caça, marcação de território e interações sociais) e criar um ambiente favorável à reprodução (Figura 6) (Lynxexsitu, 2017).

Figura 6- Reintrodução do lince ibérico (adaptado de Silva, 2014)



## 7. Outras espécies do género *Lynx*

### 7.1 Lince Euroasiático (*Lynx lynx*, Linnaeus 1758)

O lince euroasiático é a maior espécie do género *Lynx* e a única que tem como principal presa os ungulados (Figura 7) (Loveridge & Macdonald, 2010).

A época de reprodução é de fevereiro a abril com uma gestação de 69 dias. O tamanho da ninhada varia entre um a quatro animais, tal como no lince ibérico (Nowell & Jackson, 1996).

As maiores ameaças são a pouca aceitação por parte da população mais concretamente caçadores e produtores agrícolas, perda de habitat e mortalidade não natural (atropelamentos e caça ilegal) (Loveridge & Macdonald, 2010).

Os programas de reintrodução para esta espécie surgiram na Suíça, Eslovénia, República Checa, Áustria, Alemanha, Itália e França (Loveridge & Macdonald, 2010).

O número de indivíduos (excluindo a Rússia e Bielorrússia) está estimada em 9000-10.000. Tem a classificação atual de LC pela sua grande distribuição e populações estáveis no norte da Europa e em grande parte da Ásia (Breitenmoser et al., 2015).

Figura 7- Lince euroasiático adulto (adaptado de Pérez, 2012).



## 7.2 Lince do Canadá (*Lynx canadensis*, Kerr 1792)

O lince do Canadá é mais pequeno que o lince euroasiático e caracteriza-se pela sua longa pelagem (Figura 8) (Alderton, 2003).

A época de reprodução ocorre entre maio e junho, exceccionalmente em julho, com uma gestação entre 63 a 70 dias. O tamanho da ninhada é em média de quatro a cinco crias com abundância de alimento e dois a quatro em alturas de escassez de alimento (Nowell, & Jackson, 1996).

Acredita-se ser um felino solitário apesar das fêmeas poderem caçar em conjunto quando têm crias (Alderton, 2003).

À semelhança do lince ibérico, o lince canadiano possui uma dieta especialista em lagomorfos, sendo a sua principal presa a lebre, *Lepus americanus* (Loveridge & Macdonald, 2010).

Para este lince, a maior ameaça é a redução e fragmentação do habitat natural (Loveridge & Macdonald, 2010).

Está classificado como LC, porém a nível regional na Nova *Brunswick* e Nova Escócia (províncias do Canadá) está listado como EN e em algumas zonas dos Estados Unidos como CR. Neste caso não foi iniciado nenhum programa de conservação uma vez que se considera que o número de animais está a aumentar (Vashon, 2016).

Figura 8- Lince do Canadá (adaptado de Pérez, 2012)



### 7.3 Lince Vermelho (*Lynx rufus*, Schereber, 1777)

O lince vermelho caracteriza-se pela sua pequena estatura com membros curtos e coloração castanha-avermelhada com zonas cinza claro e branco nas extremidades (Figura 9) (Alderton, 2003).

Este lince alimenta-se principalmente de lagomorfos, mas é menos especialista que o lince canadense ou o lince ibérico (Loveridge & Macdonald, 2010).

A época de reprodução ocorre em fevereiro e março com os partos a acontecer entre abril e maio (gestação de 62 dias). O tamanho da ninhada é em média de três crias (Nowell & Jackson, 1996).

A caça ilegal para o mercado de peles, perda de habitat e a exposição a agentes anticoagulantes e rodenticidas representam ameaças para a sua sobrevivência, mas as ações de reintrodução na ilha *Cumberland* foram bem sucedidas (Kelly, Morin & López-Gonzalez, 2016).

Possui a classificação LC uma vez que a população está amplamente distribuída e não se presume que diminua a um ponto crítico próximo de extinção (Kelly et al., 2016).

Figura 9- Lince vermelho (adaptado de Pérez, 2012)



## 8. O Coelho Europeu (*Oryctolagus cuniculus*, Linnaeus 1758)

O coelho europeu pertence à família Leporidae, ao género *Oryctolagus* e à espécie *Oryctolagus cuniculus*. Em Portugal e no sudoeste de Espanha ocorre a espécie *Oryctolagus cuniculus algirus* e no resto da Europa está presente a espécie *Oryctolagus cuniculus cuniculus* (Caldas, 2013)

É um herbívoro bastante flexível que se adapta aos recursos disponíveis e se alimenta essencialmente de gramíneas (Lopes, 2012). Prefere locais de ligação entre culturas, prado e mato onde as zonas de abrigo e de alimentação estejam próximas. É visto maioritariamente à noite revelando os seus hábitos crepusculares e noturnos (Caldas, 2013).

As ninhadas nascem entre fevereiro e agosto após um período de gestação de 28 a 33 dias e o número de crias varia entre 3 e 12 (em média 5) (Caldas, 2013).

O coelho europeu faz parte da dieta de vários predadores de habitat mediterrânico como o lince-ibérico e a águia imperial (*Aquila adalberti*) (Delibes-Mateos, Delibes, Ferreras & Villafuerte, 2008) para além de representar uma das mais importantes espécies cinegéticas a nível nacional (Figura 10) (Ferreira, 2003).

As populações de coelhos selvagens têm sofrido um declínio acentuado devido à destruição do habitat, pressão cinegética excessiva e de duas doenças virais (mixomatose e doença hemorrágica viral) (Ferreira, 2003), levando esta espécie à classificação de NT na lista vermelha da IUCN (Smith & Boyer, 2008).

A diminuição do número de coelhos provocou um aumento do controlo de outros predadores deixando os lince mais expostos à caça e armadilhas ilegais (Simón et al., 2012b).

Os esforços para a recuperação dos efetivos como a abertura de pastagens e a instalação de abrigos artificiais parecem ter sido benéficas para o crescimento das populações (Ferreira, 2003).

Figura 10- Crias de lince ibérico e coelho europeu (adaptado de Lynxessitu, 2017)





## 9. Medicina preventiva

As considerações relativas à saúde na reprodução em cativeiro constituem uma fonte de preocupação para os profissionais em grande parte devido à introdução de doença numa população sã (Lynxessitu, 2017).

Nesse sentido, o desenvolvimento de um programa de saúde que permita a avaliação de agentes infecciosos e não infecciosos, é um dos aspetos mais importantes a ter em conta no desenvolvimento de um programa de conservação (Vargas et al., 2009). O *Grupo Asesor de Aspetos Sanitários del lince ibérico* (GAASLI) desenvolveu um programa sanitário que serve as populações *ex situ* e *in situ* (GMSLI, 2014).

O programa sanitário do lince ibérico é similar a outros programas de saúde para felinos e segue as recomendações da *European Association of Zoos and Aquaria* (EAZA) e da *Association of Zoos & Aquariums* (AZA) (Vargas et al., 2009).

### 9.1 Atuações sanitárias

As intervenções sanitárias no lince ibérico consistem em exames médicos realizados sob anestesia geral com exame físico, colheita de amostras biológicas, recolha de dados biométricos, vacinação, desparasitação, colocação de microchip e registo fotográfico. O procedimento deve ser realizado por dois veterinários, um apenas responsável pela anestesia e o outro responsável pelas restantes tarefas (Figura 11) (Simón et al., 2012b).

Em cativeiro, a decisão de intervenção da equipa veterinária deve basear-se no aspeto geral do lince e com maior detalhe na cabeça (abcessos dentários, reação alérgica, fluxo anormal nas narinas), no tórax (taquipneia e bradipneia), no corpo (distensão abdominal e hérnias umbilicais em crias), extremidades (claudicações e feridas), genitais (criptorquismo) e glândulas mamárias (presença de tumores nas fêmeas) (GMSLI, 2014).

Quando se decide intervir, na maioria das situações o animal tem que ser anestesiado, sendo por isso conveniente estar familiarizado com o protocolo anestésico. Para anestésias de 30 a 40 minutos é sugerido a quetamina e medetomidina (o isoflurano inalatório pode ser usado para prolongar a anestesia) ou Zoletil® (associação de tiletamina e zolazepam). Idealmente é feito um jejum de 24 horas de sólidos e 12 horas de água (GAASLI, 2004).

É importante ter uma ideia do peso do animal antes do exame sanitário. Normalmente, em vida livre um macho adulto (superior a 3 anos) pesa entre 12-15 kg e uma fêmea entre 9-11 kg; um lince subadulto (1-2 anos) pesará 6-12 kg; um animal jovem (3 meses-1 ano) entre 2-10 kg e uma cria (< 3 meses) entre 1-3 kg. Há que ter em conta que o peso dos animais em cativeiro geralmente é superior (GMSLI, 2014).

Quando se decidir intervir, as jaulas de compressão são o método de eleição tanto em cativeiro como em liberdade (GMSLI, 2014).

Figura 11- Exame sanitário a um lince ibérico em cativeiro (adaptado de GMSLI, 2014)



## 9.2 Colheita de amostras biológicas

Em todas as anestésias do lince ibérico são colhidas amostras biológicas que se destinam a estudos sanitários, estudos genéticos ou armazenamento no BRB'S. Ainda que a colheita de amostras seja um passo extremamente importante para o desenvolvimento do programa, a prioridade no manuseio de qualquer animal é o seu bem-estar por isso a colheita de amostras estará condicionada ao estado do animal e ao desenvolvimento da anestesia (GMSLI, 2014).

Para além da colheita de amostras durante as anestésias, os tratadores recolhem diariamente diversas amostras que variam consoante os estudos a decorrer em cada Centro (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

De acordo com o GMSLI (2014), a fauna parasitária do lince ibérico pode ser avaliada pela colheita de amostras de fezes, sangue e pelo.



### 9.2.1 Exames fecais

A análise de amostras fecais para diagnóstico parasitológico é provavelmente o exame laboratorial mais comum na prática veterinária com vantagens importantes como ser não invasivo e ter um custo razoável (Zajac & Conboy, 2012).

Estes exames permitem identificar os parasitas que utilizam as fezes como veículo de disseminação no exterior, nomeadamente parasitas gastrointestinais (Sousa, Silva & Madeira de Carvalho, 2016).

As técnicas laboratoriais usadas em coprologia parasitária são simples e fiáveis permitindo um diagnóstico qualitativo e quantitativo da infeção parasitária (Sousa et al., 2016).

Os métodos mais comuns para identificação de parasitismo gastrointestinal são o esfregaço fecal, a técnica de sedimentação, a técnica de flutuação simples e a técnica de flutuação associada à centrifugação. Os resultados de diagnóstico por estas técnicas mostram que a técnica de flutuação associada à centrifugação apresenta melhores resultados que o esfregaço fecal e a flutuação simples (Dryden, Payne, Ridley & Smith, 2006).

Sousa et al. (2016) afirmam que os métodos de flutuação utilizam soluções mais densas do que as formas parasitárias e menos densas do que os restantes constituintes fecais com o objetivo de concentrar os elementos parasitários à superfície da mistura fecal. Esta técnica é adequada para a visualização de ovos de nematodes e cestodes e oocistos e cistos de protozoários de densidade inferior a 1.2.

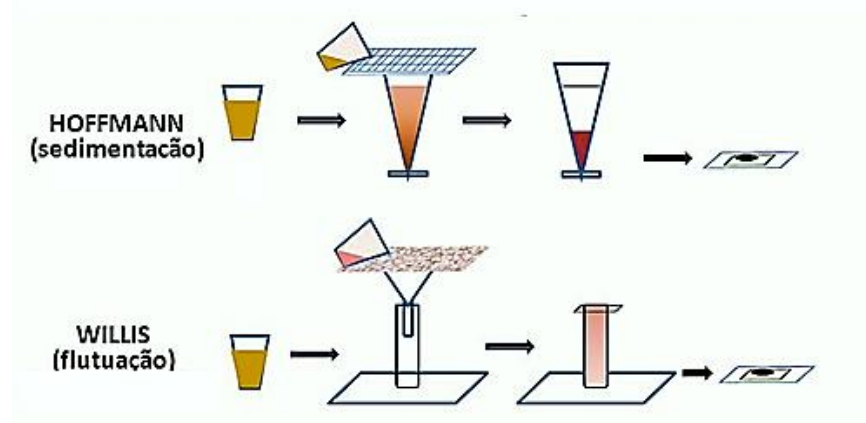
O método de flutuação (por ex. Willis) é um método qualitativo que consiste em preencher um tubo cilíndrico com uma solução saturada até formar um menisco e colocar uma lamela sobre o menisco, esperando que ovos flutuem e adiram à lamela. Essa lamela será colocada sobre uma lâmina e visualizada ao microscópio ótico (MO) (Figura 12). Uma técnica mais complexa será seguir o mesmo procedimento, mas adicionar o passo de centrifugação para permitir mais facilmente a separação de detritos fecais e acelerar a movimentação dos ovos. Em parasitologia veterinária são comuns as soluções de açúcar com densidade 1.20 e 1.25 e várias soluções salinas como soluções de nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) a 1.20 e 1.30, sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4$ ) a 1.18, cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) a 1.20 e sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4$ ) a 1.32. (Dryden et al., 2006).

A solução de açúcar permite uma boa separação entre os constituintes fecais, cristaliza lentamente e mantém as formas parasitárias sem alterações morfológicas durante alguns dias, porém as soluções salinas são preferíveis à solução de açúcar porque são menos viscosas e conservam-se durante períodos mais longos (Sousa et al., 2016).

Quando se usa a solução de açúcar a centrifugação é importante devido à viscosidade da solução que retarda o processo de flutuação (Zajac & Conboy, 2012).

O método de sedimentação (por ex. Hoffmann) é um método qualitativo que utiliza soluções diluidoras menos densas que as formas parasitárias e mais densas do que os restantes constituintes fecais, o que permite criar um sedimento de forma a concentrar os elementos parasitários que devido à sua densidade sedimentam quando em solução. A sedimentação espontânea com água da torneira deverá ser aplicada na pesquisa de ovos de trematodes cuja densidade é superior a 1.4 (Figura 12) (Sousa et al., 2016).

Figura 12- Métodos de concentração de fezes (adaptado de Fonseca, 2008)



Nos Centros de cria, a análise de amostras fecais é realizada com o objetivo de avaliar a carga parasitária gastrointestinal, realizar análise molecular de agentes infecciosos, análise de antibiorresistências, detecção de metabolitos hormonais, diagnóstico de gestação e armazenamento no BRB'S (GMSLI, 2014).

A indicação para a colheita de amostras fecais no lince ibérico é 5 a 10 cm da matéria fecal. O protocolo de recolha refere a colheita de fezes diária de cada indivíduo ao longo do ano e, se possível, das ninhadas. As fezes devem ser colocadas num saco de plástico hermeticamente fechado devidamente identificado com o nome do lince, número da amostra e a data da colheita como ilustrado na figura 13 (Lynxessitu, 2010).

A colheita de fezes pode ser efetuada com o animal anestesiado através de uma massagem no abdómen sobre o reto ou, em alternativa nas instalações dos animais pelos tratadores (GMSLI, 2014), embora este método apresente mais desvantagens tais como a alteração da composição da amostra devido às condições ambientais, a invasão por organismos coprófagos de vida livre e o desenvolvimento dos formas parasitárias presentes, alterando a sua viabilidade e morfologia o que dificulta o diagnóstico coprológico (Sousa et al., 2016)

O Programa *ex situ* recomenda a análise coprológica e a realização de coproculturas a cada seis meses, em todos os Centros (*Grupo de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

As coproculturas são uma boa forma de diagnóstico não invasivo para deteção de *Salmonella/Shigella/Yersinia/Campylobacter* (Vargas et al., 2005).

É de referir que o exame coprológico tem importância não só na prática clínica como em Saúde Pública uma vez que diversos parasitas que atingem o lince ibérico apresentam potencial zoonótico (*Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Ancylostoma caninum*, *Giardia* spp, *Cryptosporidium parvum*, *Toxoplasma gondii* entre outros) (Dryden et al., 2006).

Figura 13- Amostras fecais colhidas por tratadores do CNRLI (foto original).



### 9.2.2 Esfregaços Sanguíneos

Os esfregaços sanguíneos constituem um exame complementar muito utilizado em Medicina Veterinária pela facilidade de execução e baixo custo (Figueiredo, 2007).

Esta técnica deve ser realizada imediatamente após a colheita de sangue efetuada para um tudo com anticoagulante, normalmente o EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). O EDTA é frequentemente o anticoagulante de escolha em hematologia pela sua capacidade de preservação celular o que possibilita a realização de esfregaços satisfatórios (Villiers, 2010).

Para a realização do esfregaço deve colocar-se uma gota de sangue numa lâmina de vidro (de preferência com uma extremidade fosca para identificação), segurar uma outra lâmina segundo um ângulo de 30° em frente à gota de sangue e deslizar levemente a lâmina para trás de forma a que o sangue se espalhe por toda a aresta da lâmina. Quando isto ocorre, devemos segurar firmemente a lâmina e estender o sangue num movimento único e rápido. Idealmente o esfregaço deve estender-se até dois terços do comprimento da lâmina (Villiers, 2010).

Depois de seco o esfregaço deve ser corado com uma solução de coloração, como por exemplo o Diff-Quick® (Villiers, 2010).

Inicialmente a lâmina deve ser observada com a objetiva de menor ampliação de modo a permitir a deteção de elementos parasitários de maiores dimensões como as microfilárias e em seguida deve aumentar-se a ampliação para 40x ou 100x de forma a detetar parasitas menores como a *Babesia* spp. (Viana, 2010).

No lince ibérico, a colheita de sangue deve ser efetuada por punção da veia cefálica, safena ou jugular, recomendando-se sempre que possível a veia cefálica. As amostras de sangue podem ser usadas para realização de hemogramas, bioquímicas, análise de metabolismo do cálcio, deteção de agentes infecciosos e armazenamento no BRB'S (GMSLI, 2014)

Os esfregaços sanguíneos auxiliam no diagnóstico de diversas doenças parasitárias como a anemia infecciosa felina causada por *Mycoplasma haemofelis* (Villiers, 2010).

### 9.2.3 Tricogramas

O tricograma é um meio de diagnóstico comum em dermatologia veterinária por ser um exame complementar pouco dispendioso e com resultados rápidos (Pais, 2013).

Este exame consiste em colher amostras de pelo através da sua tração da pele e posterior exame microscópico. As amostras podem ser colhidas com pinça hemostática, com fita-cola, com os dedos ou pelo método de escovagem. Quando se utiliza a pinça é importante tracionar os pelos seguindo a direção sobre a qual estes emergem, de modo a reduzir os artefactos traumáticos.

A visualização ao MO deve ser realizada com uma objetiva de baixa ampliação (10x) (Pais, 2013).

Este procedimento revela-se especialmente útil na colheita de material em zonas mais difíceis de raspar, como os espaços interdigitais, a zona periocular e perinasal para pesquisa de *Demodex* spp. (Lousada, 2015; Courinha, 2016).

De acordo com o GMSLI (2014), a colheita de ectoparasitas no lince ibérico efetua-se através de uma análise metódica do pelo do animal durante a anestesia, em especial em zonas escondidas como as orelhas e debaixo das barbas. Os parasitas encontrados devem ser conservados em recipientes fechados, à temperatura ambiente ou em refrigeração. Estas amostras são usadas para identificação específica do parasita ou análise molecular de agentes infecciosos.

## 10. Doenças parasitárias no Lince ibérico

### 10.1 Parasitas gastrointestinais

A maioria dos mamíferos considerados ameaçados pelos parasitas são carnívoros ou artiodáctilos que se encontram em populações reduzidas e fragmentadas com pouca diversidade genética. Por esta razão, a presença de parasitas que causam doenças representa um fator adicional que aumenta o risco de extinção. Por outro lado, os parasitas são elementos essenciais na saúde dos ecossistemas e representam a maioria da biodiversidade do planeta merecendo a nossa atenção em termos de conservação juntamente com os seus hospedeiros (Pérez et al., 2013).

Nos carnívoros raros e protegidos a obtenção de amostras torna-se mais difícil (Rodríguez, & Carbonell, 1998) o que resulta numa menor diversidade de informação publicada (Acosta, León-Quinto, Bornay-Llinares, Simón & Esteban, 2011). A fauna gastrointestinal dos carnívoros tem sido descrita em grande parte pela observação de parasitas adultos em necropsias (Rodríguez & Carbonell, 1998), embora a análise de amostra fecais também se revele útil (Acosta et al., 2011).

Para Rodríguez e Carbonell (1998), a análise de amostras fecais tem a vantagem de não necessitar da morte de um animal protegido para obter resultados. Aliado a isso, a prática de colheita de fezes de animais em cativeiro parece ser vantajosa em relação à colheita de amostras no campo pois algumas larvas e oocistos acabam por se deteriorar com o tempo dificultando a sua identificação nas fezes. Com os animais em cativeiro é ainda possível a colheita de amostras frescas em dias consecutivos o que aumenta a probabilidade de obtermos um resultado positivo.

No lince ibérico, a maioria das espécies parasitárias não causa doença grave desde que o animal seja imunocompetente e não esteja sob fatores de stress (GMSLI, 2014).

Segundo Castro (1992) foram observados os nematodes *Toxocara cati*, *Toxocara leonina*, *Ancylostoma* sp. e família Filaroididae em fezes de lince ibérico colhidas na Serra da Malcata.

Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca e Carvalho Varela (1994) detetaram a presença de *Toxocaris leonina*, *Ancylostoma* sp. e *Uncinaria* sp. em três das 23 amostras fecais colhidas no mesmo local.

Torres, García-Perea, Gisbert & Feliu (1998) identificaram doze espécies a partir de oito carcaças pertencentes a exemplares de populações selvagens de Espanha (Montes de Toledo, *Sierra Morena* e Parque Nacional de *Doñana*).

As espécies encontradas em Espanha incluem *Brachylaima* sp., *Taenia pisiformis*, *T. polyacantha*, *T. taeniaeformis*, *Mesocostoides litteratus*, *Eucoleus aerophilus*, *Ancylostoma tubaeforme*, *Toxocara cati*, *Toxascaris leonina*, *Vigisospirura potekhina potekhina*, *Mastophorus muris* e *Physaloptera praeputialis*.

Um estudo mais recente comprova a identificação de parasitas já encontrados e revela a primeira identificação de *Hymenolepis* spp. através da detecção de ovos nas fezes de dois exemplares selvagens de *Doñana* e *Sierra Morena*. Este cestode merece mais atenção para ajudar a perceber se o lince ibérico atua como hospedeiro definitivo (HD) ou se a infecção provém da ingestão de outras presas para além dos coelhos, nomeadamente de roedores uma vez que o género *Hymenolepis* é mais comum em roedores do que lagomorfos (Acosta et al., 2011).

A excreção de ovos nas fezes foi relatada para *T. pisiformis* e *Taenia* spp., *Eucoleus aerophilus*, *Ancylostoma* spp., *T. cati*, *T. canis*, *T. leonina* e *Strongyloides stercoralis*, em lince selvagens de *Sierra Morena* e de *A. tubaeforme* em exemplares de *Donãna* (Acosta et al., 2011).

Um estudo realizado em 129 lince-ibéricos em liberdade e 85 coelhos bravos revelou a presença de anticorpos (Ac) para a infecção por *Toxoplasma gondii* em 81 dos 129 lince e em 14 dos 85 coelhos. Relativamente aos lince, apenas foi possível a identificação de oocistos nas fezes de 71 desses animais o que significa que em 58 lince apesar de serem detetados Ac não se registou a presença de oocistos nas fezes (García-Bocanegra et al., 2010).

A prevalência do *T. gondii* no lince ibérico parece aumentar com a idade e é comum tanto em populações selvagens (66,7%) como em populações cativas (69%), embora significativamente menor nos animais que já nasceram em cativeiro (22,5%) (García-Bocanegra et al., 2010).

Associado à infecção do *T. gondii* encontra-se a presença concomitante de *Cytauxzoon felis* (García-Bocanegra et al., 2010).

De seguida faremos uma breve abordagem aos elementos parasitários mencionados.

A família Ascaridae engloba o género *Toxocara* (*Toxocara canis*, *Toxocara cati*) e o género *Toxascaris* (*Toxascaris leonina*) (Lopes, 2013). Estes nematodes são encontrados no intestino delgado de felídeos e canídeos, sendo que *T. cati* é específico de felinos, *T. canis* de canídeos e o *T. leonina* pode ser encontrado em ambos (Shapiro, 2010).

O padrão de migração de *T. cati* difere do de *T. canis* na medida em que não ocorre a infecção pré-natal através da placenta (Bowman, 2014).

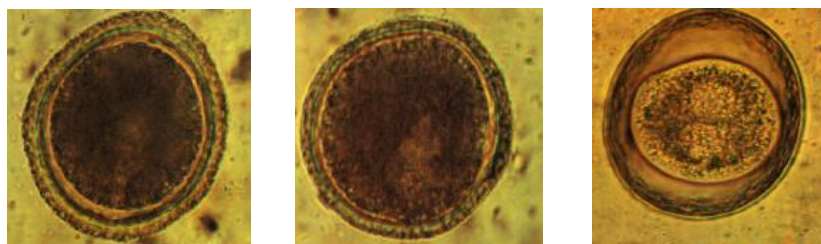
Os felinos infetam-se normalmente pela ingestão de ovos de *Toxocara* que contêm uma larva no terceiro estágio de desenvolvimento (L3). Um ovo que contenha com uma larva do primeiro estágio não é infeccioso e necessita de quatro semanas fora do hospedeiro para adquirir essa capacidade (Bowman, 2014). No caso de *Toxascaris leonina*, o desenvolvimento larvar ocorre mais rápido, tornando-se infeccioso em apenas uma semana. Esta característica, assim como a sua capacidade para usar roedores como hospedeiros paraténicos (HP), fazem com que este parasita se torne muitas vezes um problema para os felídeos e canídeos em jardins zoológicos (Bowman, 2014).

Os HP (maioritariamente roedores ou aves) representam um reservatório importante para os gatos adultos, principalmente para aqueles com hábitos predadores bem desenvolvidos (Bowman, 2014).

Os nematodes *T. cati* e *T. leonina* parecem ser os ascarídeos mais frequentes do lince ibérico (Torres et al., 1998; Rodriguez & Carbonell, 1998), confirmando-se já a sua expansão nas restantes três espécies do género *Lynx* (Torres et al., 1998).

Segundo a Equipa de Cria de *El Acebuche*, os nematodes *T. leonina*, *T. canis* e *T. cati* são achados comuns nas análises fecais do lince ibérico. Para estes autores, a infeção é muito mais difícil de eliminar do que de controlar por isso se assume de grande importância a realização de exames coprológicos e tratamento profiláticos com anti-helmínticos (Vargas et al., 2005). O diagnóstico é efetuado pela observação de ovos nas fezes, através do método de Willis (Figura 14) (Shapiro, 2010).

Figura 14- Ovos de *T. canis*, *T. cati* e *T. leonina*, da esquerda para a direita, na ampliação 40x (adaptado de Thienpont et al., 1986)



No Zoo *Benito Juarez*, a análise de amostras fecais pelo método de Willis de dez felinos revelou duas amostras positivas. Essas amostras detetaram a presença de *Toxocara* sp. num leão albino (*Panthera leo Krugeri*) e numa chita (*Acinonyx jubatus*) e de *Isospora* sp. apenas no leão.



Segundo esta instituição, estas infeções manifestam-se quando há um limitado programa de medicina preventiva (Palomino et al., 2012).

Os helmintes *Ancylostoma* spp. e *Taenia* spp., são parasitas frequentes no lince ibérico (Rodriguez & Carbonell, 1998).

A família Ancylostomatidae tem vários modos de transmissão entre eles a penetração na pele, através da lactação ou através de hospedeiros paraténicos como roedores e insetos (Torres et al., 1998). Os HD infetam-se pela ingestão ou penetração dérmica das larvas infetantes (L3) que vão migrar pelos tecidos e desenvolver-se até ao estágio de nematodes adultos no lúmen intestinal (Lopes, 2013). Dentro desta família distinguem-se duas subfamílias, Ancylostomatinae e Bunostominae. A subfamília Ancylostomatinae inclui o género *Ancylostoma* e *Uncinaria*, mencionados no lince ibérico e ainda os géneros *Globocephalus* e *Placoconus* (Bowman, 2014).

Dentro do género *Ancylostoma* distingue-se a espécie *Ancylostoma tubaeforme* no lince ibérico (Torres et al., 1998; Míllan & Dellibes, 2006) e *Ancylostoma caninum* no lince vermelho (Torres et al., 1998), facto surpreendente uma vez que este nematode é maioritariamente representado em canídeos. Os lince juvenis demonstram uma prevalência mais elevada para *A. tubaeforme* do que os adultos (Vicente, Palomares, de Ibañez, & Ortiz 2004).

A família Taeniidae contém os géneros *Taenia* e *Echinococcus* ambos importantes em medicina humana e medicina veterinária (Gunn & Pitt, 2012).

O género *Taenia* possui quase 80 espécies conhecidas. Destas, aproximadamente 25 apresentam um ciclo de vida inteiramente silvestre e o restante é em grande parte doméstico ou tem componentes do ciclo doméstico e silvestre (David & Singleton, 2001). O ciclo de vida desta família envolve para a maioria das espécies um carnívoro que atua como HD onde se encontra a forma adulta do parasita no intestino delgado e um herbívoro ou omnívoro que atua como hospedeiro intermediário (HI) (Gunn & Pitt 2012).

Em Portugal, a informação sobre a prevalência e ciclo biológico da família Taeniidae em espécies selvagens é escassa. Como tal, os autores Guerra et al., (2013) investigaram o papel do lobo ibérico (*Canis lupus signatus*) como HD dos géneros *Taenia* e *Echinococcus* e observaram a excreção de ovos nas fezes pertencentes às espécies *Taenia hydatigena*, *Taenia serialis*, *Taenia pisiformis*, *Taenia polyacantha* e *Echinococcus intermedius*, constituindo o primeiro relato de *T. polyacantha* e *E. intermedius* no lobo ibérico, na Península Ibérica (Guerra et al., 2013)

O lince ibérico partilha com este canídeo as espécies *T. polyacantha* e *T. pisiformis*. Estas são transmitidas ao lince durante a ingestão de lagomorfos infetados (Torres et al., 1998; Gunn & Pitt 2012).

Os adultos de *T. pisiformis* são encontrados majoritariamente em canídeos e raramente em felídeos. O cysticercus (forma larvar) é visível encapsulado na serosa das cavidades corporais e vísceras de roedores e lagomorfos (Gunn & Pitt 2012).

*Taenia polyacantha* ocorre em canídeos do hemisfério norte, principalmente na raposa do Ártico (*Alopex lagopus*) e na raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*) e ocasionalmente em lobos e cães nas regiões mais a sul. Os dados de prevalência são escassos, mas geralmente as prevalências deste parasita são baixas (< 15% em HD e < 3% em HI) (Gunn & Pitt 2012).

Os adultos de *Taenia taeniaeformis* são amplamente distribuídos em felídeos (para além do lince ibérico também foram detetados no *Lynx rufus* e *Felis silvestris*) e apresentam algumas repercussões em raposas (*Vulpes vulpes*) e em híbridos lobo/coiote (*Canis latrans x rufus*) (Gunn & Pitt 2012).

*Taenia hydatigena* é uma espécie de distribuição cosmopolita encontrada em espécies domésticas e selvagens, majoritariamente em canídeos, mas também em felídeos como o caso do lince vermelho (Jones & Pybus, 2001; Gunn & Pitt 2012).

O diagnóstico é feito através da observação de proglotes grávidos nas fezes ou da procura de ovos em preparações microscópicas. A presença de ovos deve ser observada em ampliações de 10 × e 40 × (Gunn & Pitt 2012). Em trabalhos mais recentes a sua diferenciação é efetuada com base em técnicas de isolamento por filtração e biologia molecular (Guerra et al., 2013)

Os ovos de *Taenia* spp. são indistinguíveis morfológicamente ao MO, mas a sua visualização é importante para fazer um diagnóstico. Os ovos são cor de laranja com uma forma redonda e parede grossa e estriada (Figura 15) (Gunn & Pitt 2012).

Figura 15- Ovos de *Taenia* spp. na ampliação 40x (adaptado de Bowman, 2014).



Os nematodes da família Filaroididae são nematodes pulmonares e não gastrointestinais, mas pela sua referência no lince ibérico foram incluídos. Os mais conhecidos na medicina veterinária são parasitas de canídeos que apresentam um ciclo biológico direto- *Filaroides osleri* e *Filaroides hirthi* (Bowman, 2014).

O género *Filaroides* é tipicamente um nematode pulmonar frequente em cães. Este nematode assemelha-se ao nematode pulmonar mais comum dos gatos, *Aelurostrongylus abstrusus* (Shapiro, 2010).

Para além destas espécies destacam-se as que usam caracóis como HI e que parasitam carnívoros (*Filaroides martis* e *Filaroides rostratus*) (Bowman, 2014). Em espécies selvagens há diversos registos de *Filaroides martis* em canídeos selvagens (Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, Gomes, & Meireles, 2009; Silva, 2010; Nabais, 2012) e da família Filaroididae no lince ibérico, pelo autor Castro (1992).

O género *Brachylaima* sp. pertence à subclasse Digenea e à família Brachylaimidae. São parasitas com ciclos de vida complexos e frequentemente usam micromamíferos como HD. A subclasse Digenea é assim chamada porque os seus membros passam por um desenvolvimento com reprodução assexuada e sexuada. As gerações assexuadas normalmente ocorrem em moluscos (caracóis) e a forma sexuada é encontrada em vertebrados (Bowman, 2014). Segundo Gracenea e Gállego (2017), o caracol comestível *Cornu aspersum* atua como 2ºHI representando um risco para a Saúde Pública. O ciclo de vida inicia-se quando os ovos são eliminados nas fezes do HD e ingeridos pelo 1ºHI onde se desenvolvem até cercarias que são depois eliminadas e ingeridas por um 2ºHI onde se diferenciam em metacercarias. Quando o HD ingere o HI, as metacercarias podem desenvolver-se até adultas no intestino (Mas-Coma & Montoliu, 1986).

Os ovos de *Capillaria* spp. senso lato (Figura 16) referidos no estudo acima, poderão vir a ser de *Eucoleus aerophilus* uma vez que é a única espécie detetada no lince ibérico (Torres et al., 1998; Rodriguez & Carbonell, 1998). O ciclo de vida de *Eucoleus aerophilus* pode ser direto, ou pode envolver minhocas como HI. O diagnóstico baseia-se na identificação de ovos assimétricos e bipolares nas fezes e no muco traqueal (Bowman, 2014).

Figura 16- Ovo de *Eucoleus aerophilus* na ampliação 40x (adaptado de Bowman, 2014).



O género *Mesocestoides lineatus* é um cestode comum na raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*) (Literák et al., 2006) e o mais frequente no lince ibérico (Torres et al., 1998). Os parasitas do género *Mesocestoides*, família Mesocestoididae, infetam carnívoros no terceiro estágio larvar ou *tetrathyridium*, o qual pode ser encontrado na cavidade peritoneal (em mamíferos e répteis) ou nos pulmões (em aves) dos HI que ao serem ingeridos vão infetar o HD (Lopes, 2013).

O género *Vigisospirura* engloba nematodes da superfamília *Spiruroidea*. A espécie *Vigisospirura potekhina* foi encontrada no estômago de um lince vermelho nos EUA, o qual constitui o primeiro relato deste nematode na América do Norte (Wong, Watson, & Anderson, 1980). Vários répteis e insetos são usados por *Vigisospirura potekhina* como HI (Torres et al., 1998).

O *Mastophorus muris* é um parasita de roedores e não um parasita de felinos, mas pode eventualmente infetar estes animais como é comprovado pelos autores Torres et al. (1998) pela presença do parasita no estômago de um lince ibérico. Este nematode requer igualmente insetos como HI para completar o seu ciclo (Torres et al., 1998).

O género *Physaloptera* faz parte dos parasitas do estômago de alguns carnívoros (Bowman, 2014). *Physaloptera praeputialis* foi encontrado no estômago do lince ibérico, no entanto parece ser mais frequente nas espécies *L. canadiensis* e *L. rufus* (Torres et al., 1998). Os HD são felídeos e canídeos e os HI são besouros, baratas e grilos. Durante o seu ciclo de vida, as formas adultas fixam-se à mucosa gástrica do HD deixando pequenas úlceras quando se movem para novos locais, o que pode conduzir a gastrite hemorrágica e anemia. As formas larvares encontram-se enquistadas na parede do intestino dos HI, onde sofrem mudas de L1 a L3 (estádio infetante). Os ovos embrionados são eliminados com as fezes e ingeridos pelos HI.

O controlo desta parasitose baseia-se no combate aos HI, na eliminação das fezes e no tratamento correto dos HD (Oliveira, António & Neves, 2009).

A família Hymenolepididae inclui o género *Hymenolepis* do qual fazem parte várias espécies como a *Hymenolepis nana*, no Homem e *Hymenolepis diminuta* nos roedores e outros mamíferos (Berenguer, 2007). Os ciclofilídeos desta família são cestodes muito pequenos com ovos de parede grossa e uma oncosfera com ganchos bem visíveis (Berenguer, 2007).

O género *Hymenolepis* possui os artrópodes coprófagos como HI (baratas, moscas, escaravelho, entre outros) e os roedores como HD, sendo frequentemente encontrado em *Rattus rattus* (Crespo, 2012).

A espécie *Joyeuxiella pasqualei* pertence às treze espécies atribuídas ao género *Joyeuxiella* (Jones, 1983). Considera-se que o parasita adulto possa infetar fauna silvestre como as raposas e gatos selvagens (American Association of Veterinary Parasitologists [AAVP], 2014).

As formas adultas encontram-se fixadas à mucosa do duodeno distal. O 1º HI ainda não está completamente determinado, mas o 2º HI parecem ser pequenos répteis que contém a larva cisticercoide na cavidade peritoneal e no fígado. Os felinos podem infectar-se durante a predação do 2º HI (AAVP, 2014). Como forma de controlo, os gatos não devem permanecer em zonas que consigam caçar pequenos répteis, principalmente em áreas de grande prevalência deste parasita (AAVP, 2014).

As espécies do género *Strongyloides* parasitam animais domésticos e seres humanos como o *Strongyloides stercoralis* no Homem e no cão, *S. westeri* nos equinos e *S. papillosus* nos ruminantes. Em felinos foram detetadas as espécies *S. felis* e *S. tumefaciens*. *S. tumefaciens* é provavelmente um parasita natural do lince vermelho que provoca lesões fibróticas no colón (Bowman, 2014).

O nematode *S. stercoralis* caracteriza-se por apresentar um ciclo de vida heterogónico (etapas de vida livre e no hospedeiro) e um ciclo homogónico (apenas no hospedeiro) (Berrueta, 2016).

As formas larvares de *Strongyloides* spp. sofrem duas mudas (L1, L2) até ao estágio infetante (L3). Nesta fase são capazes de penetrar a pele ou as mucosas do hospedeiro. Quando isso acontece, as larvas migram pelos pulmões, traqueia e faringe sendo depois deglutidas para se instalarem no duodeno e jejuno. As fêmeas penetram o intestino delgado e produzem ovos que eclodem rapidamente, sendo as larvas eliminadas com as fezes (Berrueta, 2016) ou causam autoinfecção (*Centers for Disease Control and Prevention* [CDC], 2016). Na autoinfecção a larva penetra a mucosa intestinal ou a pele da área perianal (CDC, 2016). Se as larvas rabditoides forem eliminadas com as fezes podem amadurecer como formas dimórficas (machos e fêmeas de vida livre) com potencial para desenvolvimento em larvas filaroides infetantes (Berrueta, 2016).

O diagnóstico passa pela visualização das formas larvares ao MO, em preparações de amostras fecais ou no fluído duodenal, porém a análise de amostras fecais revela-se menos sensível (Figura 17).

Para além da observação de formas larvares podem ainda ser observados ovos típicos do género *Strongyloides*, de muito pequeno tamanho e quase transparentes, com uma L1 no seu interior (CDC, 2016).

Figura 17- Larva rabditoide *Strongyloides stercoralis* em amostra fecal, na ampliação 40x (segundo Jorge, 2013).



*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório que afeta quase todas as espécies de sangue quente (Míllan & Delibes, 2006). Tem como HD os felídeos domésticos e não domésticos e uma ampla gama de HI (Gunn & Pitt, 2012). Nos felinos, a via de transmissão mais importante é a transplacentária (Míllan & Dellibes, 2006).

Existem três formas infetantes deste parasita, nomeadamente os taquizoítos e os bradizoítos (em tecidos do HI) e os esporozoítos (em oocistos no ambiente) (Gunn & Pitt, 2012). Os felinos, que se infetam ao ingerir tecidos do HI ou mais raramente fezes contaminadas, são os únicos capazes de eliminar oocistos nas suas fezes (Lopes, 2013).

Para o lince ibérico a principal fonte de infeção é a ingestão da sua presa, *Oryctolagus cuniculus*, que se infeta através da ingestão de água ou alimento contaminados com oocistos (Símon et al, 2012). A ingestão de oocistos permite a libertação dos esporozoítos que se diferenciam em taquizoítos e invadem os tecidos formando quistos tecidulares (Gunn & Pitt 2012). Quando o felino ingere a presa, os quistos são digeridos e libertam os bradizoítos (forma lenta de multiplicação) que penetram nas células do intestino delgado, onde se diferenciam em taquizoítos (forma rápida de multiplicação) e gametócitos (reprodução sexuada), que darão origem aos oocistos (Gunn & Pitt, 2012). A toxoplasmose é uma das principais zoonoses transmitidas pelo lince ibérico ao Homem (GMSLI, 2014).

De acordo com os autores Míllan e Delibes (2006), este protozoário está também presente noutras espécies de lince como o caso do lince euroasiático, do lince vermelho e do lince canadiano. No estudo sanitário destes autores, a prevalência foi bastante elevada para o lince ibérico (cerca de 90%), mas à semelhança do lince euroasiático, não foram detetados oocistos nas fezes.

Um das medidas profiláticas mais comuns em jardins zoológicos para *T. gondii* é o acondicionamento da carne fornecida aos felinos a -12°C durante um período superior a 7 dias, com o objetivo de destruir possíveis quistos enquistados (García-Bocanegra et al., 2010).

Para conclusão deste capítulo, Torres et al., (1998) referem que a fauna de helmintes do lince ibérico pode ser comparada à do lince vermelho e lince canadiano na América e à do lince euroasiático na Europa. No zoo da Maia, distrito do Porto, os exemplares de lince euroasiático são sujeitos a pelo menos uma coprologia por ano, variando a frequência deste exame com o estado geral do animal e o aspeto das suas fezes. Caso se detetem alterações que façam suspeitar de parasitismo é efetuado um exame a curto prazo no próprio zoo ou em laboratório externo. (N. Alvura, comunicação pessoal, agosto 10, 2017).

## 10.2 Hemoparasitas

As doenças transmitidas por vetores referem-se a uma ampla gama de doenças infecciosas causadas por agentes patogénicos que são transmitidos por artrópodes ou outros invertebrados (Little, 2014).

Os organismos associados à presença de vetores incluem as espécies de hemoplasmas que aparecem como pequenas bactérias pleomórficas ligadas à superfície dos eritrócitos em esfregaços sanguíneos corados (Figura 18) (Little, 2014).

Os autores Willi et al., (2007) referem que apesar das infeções por hemoplasmas estarem bem estudadas no gato doméstico, há pouca informação sobre a sua ocorrência em felinos selvagens. Através da análise de amostras de sangue estes autores detetaram a presença de hemoplasmas em diversos felinos entre eles o lince ibérico e o lince euroasiático.

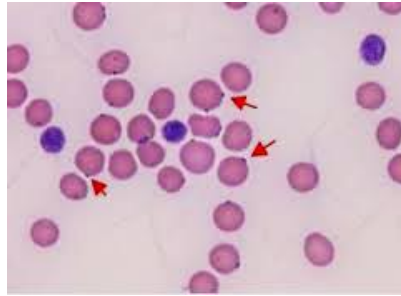
No lince ibérico está descrita a infeção por *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* e *Mycoplasma turicensis* (Willi et al., 2007; Simón et al., 2012b;).

*M. haemofelis*, anteriormente designado por *Haemobartonella felis*, provoca a hemobartolose. Os felinos infetados por este organismo geralmente desenvolvem uma anemia regenerativa (Kewish, Appleyard, Myers, Kidney & Jackson, 2004). As espécies *M. haemominutum* e *M. turicensis* estão também associadas à anemia felina (Kewish et al., 2004; Willi et al., 2007).

Quando comparamos felinos não domésticos em cativeiro e em vida livre observa-se uma prevalência mais elevada nos felinos de vida livre devido à maior exposição a ectoparasitas vetores (pulgas e ixodídeos) e aos hábitos de caça sobre roedores (Willi et al., 2007).

Existe uma maior prevalência de hemoplasmas em felinos infetados com o vírus da leucemia felina (FeLV). Outros agentes imunossupressores, como o vírus da esgana e *Theileria* spp. também podem ter influência na frequência destas infeções, ainda assim são necessários mais estudos sobre o seu impacto em felinos selvagens (Willi et al., 2007).

Figura 18- *Mycoplasma* sp. na ampliação 100x (segundo Compion, 2014).



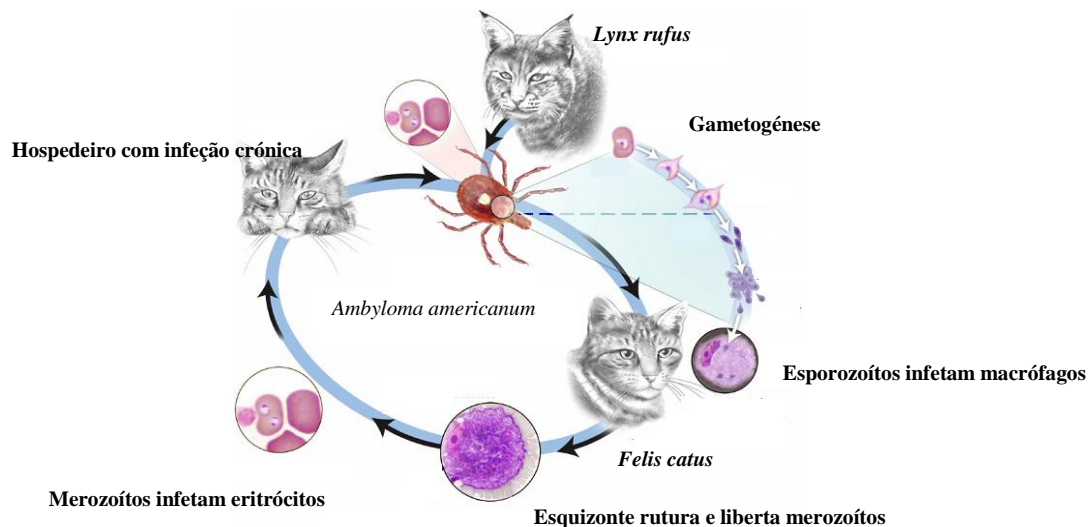
Cytauxzoonose é uma doença felina emergente causada por hemoprotozoários do género *Cytauxzoon* (Alho et al., 2016). A espécie com maior importância em felinos é o *Cytauxzoon felis*, família Theileridae (Díaz-Regañón et al., 2017). O primeiro relato de *Cytauxzoon* sp. em Portugal é feito em 2016 num gato doméstico do sexo masculino com dois anos de idade que apresentava história de letargia aguda, anorexia e pirexia (Alho et al., 2016).

Este protozoário é transmitido por ixodídeos e pode infetar felinos domésticos e não domésticos (Díaz-Regañón et al., 2017). *Cytauxzoon* sp. está descrito em gatos domésticos, leões, tigres, lince euroasiático, lince ibérico, gato silvestre e no gato-de-Pallas (*Octolobus manul*) (Alho et al., 2016).

O ciclo de vida inclui uma fase intraeritrocitária e outra tecidular, em que os esquizontes infetam macrófagos e monócitos (Figura 19) (Míllan & Dellibes, 2006).

O lince vermelho é considerado o hospedeiro natural deste protozoário na América do Norte, no qual causa uma infeção subclínica persistente (Míllan & Dellibes, 2006). No lince ibérico, o *C. felis* não parece apresentar sequelas, mas por causar sinais sistémicos fatais nos gatos domésticos, é importante no programa de monitorização deste felino (Simón et al., 2012b).

Figura 19- Ciclo de vida de *Cytauxzoon felis* (adaptado de Tarigo et al., 2013)



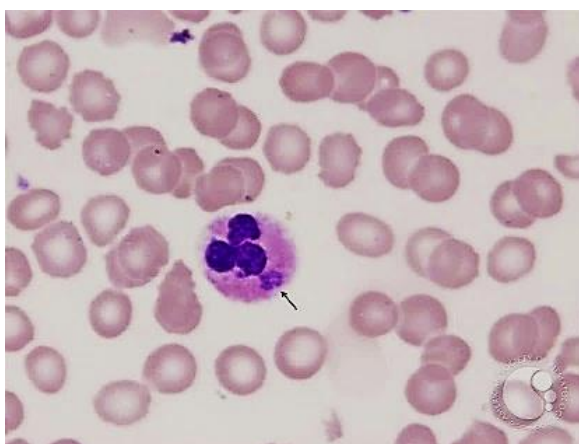


A babesiose felina é uma doença causada pelos protozoários *Babesia felis* e *Babesia cati* em gatos domésticos e pela *Babesia herpailuri* e *Babesia pantherae* em felinos selvagens de África. Esta parasitose é transmitida por ixodídeos, nomeadamente do género *Haemophysalis* (Kumar, Shekhar, Haque, & Mahto, 2008). Os sinais clínicos comuns da infeção aguda por *Babesia* spp. incluem febre, anemia, hemoglobínúria, icterícia, letargia e anorexia sendo que o estado crónico não apresenta geralmente sinais clínicos (Teives, 2015). Este protozoário não foi detetado em Espanha, local que abriga o maior número de lince ibéricos (Míllan & Dellibes, 2006).

*Leishmania infantum* foi detetada ocasionalmente nesta espécie de felino, mas não é responsável por nenhum caso clínico (Simón et al., 2012b). Este protozoário apresenta dois tipos de morfologia, consoante o hospedeiro. No hospedeiro invertebrado apresenta-se sob a forma de promastigota (forma fusiforme com um flagelo, extracelular) e no hospedeiro vertebrado de amastigota (forma arredondada ou oval, intracelular) (Garrido, 2012). É transmitida pela picada de vetores artrópodes do género *Phlebotomus* e *Lutzmoyia*, embora na Europa o primeiro género seja o único reconhecido para este efeito (Garrido, 2012).

A erliquiose é uma infeção causada por bacterias gram negativas intracelulares pertencentes à família Anaplasmataceae e ao género *Ehrlichia* (figura 20). Não está claro quais as espécies de *Ehrlichia* capazes de infetar felinos, porém foi já confirmada a presença de mórulas compatíveis com a infeção por este agente em leucócitos de felinos domésticos e selvagens seropositivos a *E. canis*. Este agente está mencionado num lince ibérico por Millán & Delibes (2006).

Figura 20- *Ehrlichia* sp. dentro do neutrófilo, na ampliação 100x (segundo Lazarchick & Post, 2008)



### 10.3 Ectoparasitas

Os parasitas externos podem causar doenças de pele importante nos animais e atuam como vetores de agentes patogénicos (Millán et al., 2007).

O GMSLI (2014) refere que o lince ibérico é afetado por moscas da família Hippoboscidae, ixodídeos (Figura 21) e pulgas com uma ligeira diferença no que toca aos lince de vida livre e aos lince em cativeiro. Os primeiros parecem ser mais atingidos por moscas Hippoboscidae enquanto que os segundos são mais afetados por ixodídeos.

Relativamente aos ixodídeos estão mencionados *Rhipicephalus pusillus*, *Rhipicephalus turanicus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes hexagonus*, *Ixodes ventralloi* e *Hyaloma* sp. (Millán et al., 2007; GMSLI, 2014). Madeira de Carvalho et al. (1994) mencionam a presença de *Rhipicephalus* sp. em lince de vida livre na Reserva Natural da Serra da Malcata.

O ixodídeo *R. turanicus* apresenta grande afinidade para habitats mediterrânicos, onde se encontra o lince ibérico. Os ixodídeos *R. pusillus* e *I. ventralloi* dependem do coelho para completar o seu ciclo e encontram-se frequentemente em carnívoros da Península Ibérica. Estes agentes podem ser responsáveis por causar anemia e por vezes a morte (Míllan & Delibes, 2006).

Figura 21- Ixodídeo na zona perianal de um lince ibérico (segundo GMSLI, 2014)



Nas pulgas (Ordem Siphonaptera), Castro (1992) menciona a presença de *Odontopsyllus quirosi* no lince ibérico em Portugal. Míllan e Delibes (2006), relatam a primeira observação de *Ctenocephalides canis* e *Spylopsyllus cuniculi* no lince ibérico em Espanha e um ano mais tarde, Millán et al (2007), detetam *Ctenocephalides canis*, *Pulex irritans*, *Spilopsyllus cuniculi* e *Xenopsylla cunicularis*.

*S. cuniculi* tem como HD o coelho europeu, o que torna o lince ibérico mais exposto a este ectoparasita pelo contacto com o lagomorfo durante a predação (Míllan & Delibes, 2006).

*Ctenocephalides canis* é um parasita com uma ampla gama de hospedeiros incluindo animais domésticos, selvagens (canídeos e felídeos) e o Homem. A metamorfose destas pulgas passa por diferentes estádios começando no ovo, três fases larvares, pupa e por fim os adultos.

Os adultos não têm tendência para abandonar o seu hospedeiro a não ser em casos de elevado grau de parasitismo (cerca de 200 parasitas no mesmo hospedeiro). Nesse caso, algumas pulgas podem abandonar o hospedeiro, especialmente se estiverem animais menos parasitados na mesma área (Bowman, 2014).

*Pulex irritans*, considerada a pulga do Homem, tem uma ampla distribuição geográfica e de hospedeiros, incluindo humanos, suínos e felinos (Bowman, 2014).

*Ctenocephalides* têm ctenídeo genal e pronotal (peças bucais) que as distingue da *Pulex irritans* (e ainda da *Xenopsilla* e *Echidnophaga*) (Bowman, 2014). *Pulex irritans* e *Ctenocephalides* spp. são importantes na transmissão do cestode *Dypilidium caninum* (Míllan & Delibes, 2006). As larvas do *Dypilidium caninum*, infetam os HD (carnívoros) aquando da sua ingestão acidental. *D. caninum* apresenta potencial zoonótico e por essa razão acresce um risco para a Saúde Pública (Lopes, 2013).

As três espécies de piolhos mencionadas no lince ibérico são *Felicola inequalis*, *Trichodectes melis* e *Felicola isidoroï* (Figura 22) (Millán et al., 2007). Os géneros *Trichodectes* e *Felicola* são piolhos mastigadores (Ordem Mallophaga) que pertencem à subordem Ischnocera (Bowman, 2014).

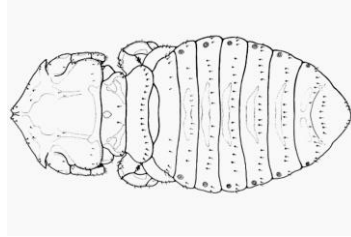
Os piolhos, ao contrário das pulgas, são muito específicos na escolha do seu hospedeiro, ou seja, uma espécie que afete um felino não vai afetar o cão ou o Homem. Usualmente são transmitidos pelo contacto direto e permanecem toda a vida no hospedeiro, se não forem motivo de controlo. As fêmeas depositam os ovos no pelo dos animais (Dryden & Payne, 2005), esses ovos dão origem a três estádios de ninfas e finalmente aos adultos. A maioria não tolera temperaturas superiores à do próprio hospedeiro (Emerson & Price, 1981).

*Felicola inaequalis* é frequentemente encontrada no sacarrabos (Lopes, 2013) e *Trichodectes melis* no texugo (*Meles meles*), apresentando por isso menos especificidade para o lince ibérico (Kozina, Gólcz & Izdebska, 2014).

*Felicola isidoroï* é um piolho exclusivo do lince ibérico e parece estar numa situação de extinção semelhante ou pior à do seu hospedeiro. Os baixos números de lince juntamente com o seu comportamento solitário podem levar à extinção deste parasita (Pérez et al., 2013).

Os piolhos não são facilmente detetados no lince ibérico devido ao seu tamanho, mas assumem importância na medida em que se podem multiplicar até um número bastante elevado (GMSLI, 2014) e provocar anemia, dermatites, alergias e alopecia (Míllan & Delibes, 2006).

Figura 22- *Felicola isidoroi* (macho), vista dorsal (adaptado de Pérez et al., 2013)



A espécie de mosca mais prevalente é a *Hippobosca longipennis* (Figura 23) (Millán et al., 2007). Esta mosca é conhecida como a mosca do cão e alimenta-se de sangue dos seus hospedeiros (carnívoros). Pode atuar como vetor da *Rickettsia conorii*, *Leishmania* spp. e *Dermatophilus congolensis* (Pérez et al., 2013).

Figura 23-*Hippobosca longipennis* (adaptado de Rani, Coleman, Irwin & Traub, 2011)



As dermatofitoses são doenças da pele provocadas por fungos, sendo os mais comuns *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* (Figura 24) (Míllan & Delibes, 2006).

Estes fungos transmitem-se por contato direto, podendo os lince contaminarem-se durante lutas com gatos ou ao compartilhar zonas de descanso, ainda assim a informação sobre estes agentes em felinos selvagens é reduzida (Míllan & Delibes, 2006).

Figura 24- Dermatomicose num exemplar juvenil (segundo GMSLI, 2014)



No que diz respeito à prevenção, o controlo de ectoparasitas no lince-ibérico deve ser efetuado a par com um controlo de parasitas no ambiente (GMSLI, 2014). A limpeza de zonas exteriores pode ser efetuada com um inseticida de baixa toxicidade e longa duração, através da pulverização a cada 6 ou 8 semanas. O produto usado deve ser variado para evitar o aparecimento de resistências (Vargas et al., 2005).

Outra medida importante é o corte da vegetação nos cercados que irá permitir a redução de locais de desenvolvimento dos parasitas (Vargas et al., 2005).

## **11. Protocolo de desparasitação**

O programa de conservação *ex situ* definiu protocolos de desparasitação que incluem o controlo de endo e ectoparasitas (GMSLI, 2014).

É de consenso entre os Centros de criação a realização de coprologias pelo menos duas vezes por ano a todos os exemplares. As coprologias são efetuadas a partir de amostras colhidas em três dias consecutivos para serem examinadas mediante exames diretos e de flutuação. A análise de amostras dos três dias é importante para aumentar as possibilidades de deteção uma vez que os parasitas gastrointestinais podem estar a ser eliminados de forma intermitente (Vargas et al., 2005).

Se possível, durante os exames sanitários das crias realizados às 4,8 e 12 semanas de idade, devem também ser colhidas fezes (GMSLI, 2014).

Na época de reprodução, os pares de reprodutores são desparasitados antes do início da temporada de criação (GMSLI, 2014).

O tratamento de eleição para endoparasitas nos adultos é a associação pamoato de pirantel e praziquantel (Drontal Gatos®, comprimidos) com ação cestocida e nematocida. Nas crias usa-se o pamoato de pirantel (Canex Gatos®, pasta oral) com ação nematocida ou em alternativa o febendazol (Panacur®, pasta oral) ou a milbemicina oxima associada ao praziquantel (Milbemax®, comprimidos) (GMSLI, 2014).

O tratamento de eleição para ectoparasitas é o fipronil associado ao (S)- metopreno (Frontline Combo spot-On®, unção punctiforme) e selamectina (Stronghold®, unção punctiforme) (GMSLI, 2014).

## 12. Doenças parasitárias no Coelho Europeu

Nos Centros de cria proporciona-se coelho de produção vivo como alimento e forma de enriquecimento ambiental para os lince ( *Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

O controlo parasitológico da presa viva nestes Centros deve incluir a avaliação de parasitismo gastrointestinal. As principais doenças descritas neste contexto são a coccidiose (*Eimeria* spp.), a encefalitozoonose (*Encephalitozoon cuniculi*) e a toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*) ( *Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015)

A coccidiose é um tema de preocupação nos coelhos (Lennox & Kelleher, 2009). Esta doença é provocada pela coccídea *Eimeria*, família Eimeriidae, caracterizada pela presença de oocistos que quando esporulam apresentam quatro esporocistos cada um com dois esporozoítos. A parede dos oocistos é geralmente de cor acastanhada (Bowman, 2014). Esta família provoca uma infeção intestinal que afeta principalmente animais jovens com diarreia sanguinolenta e desidratação (Crespo, 2012).

Luque-Martínez (2014) menciona o ciclo biológico das espécies *Eimeria* a propósito das infeções em *Oryctolagus cuniculus*. Segundo este autor, o ciclo de vida do género *Eimeria* dura entre 4 a 14 dias e consiste em 3 fases de desenvolvimento: a reprodução assexuada por esquizogonia (também conhecido como merogonia), reprodução sexuada por gametogonia e reprodução assexuada por esporogonia (Figura 25). Durante a esquizogonia, caso o oocisto esporulado seja ingerido por um hospedeiro (por exemplo um coelho ou ave), os esporozoítos são libertados e cada um pode entrar numa célula do epitélio intestinal, dando origem aos trofozoítos. Os trofozoítos crescem e multiplicam-se dando origem a um esquizonte (ou meronte) de primeira geração. Dentro do esquizonte crescem vários merozoítos que induzem a rutura da célula do hospedeiro, dando-lhes liberdade para colonizarem outras células. Nestas novas células os merozoítos darão origem a esquizontes de segunda geração e assim em diante. Podem ocorrer várias gerações de esquizontes, mas há um limite de três para a maioria das espécies de *Eimeria* com importância clínica. Esta capacidade de destruição celular é o que causa doença nas infeções por coccídeas (Bowman, 2014).

Durante a gametogonia, um merozoíto entra numa célula hospedeira e desenvolve-se em macho (microgamonte) ou fêmea (macrogamonte). O macrogamonte cresce e induz hipertrofia da célula. O microgamonte sofre divisões nucleares repetidas dando origem a diversos microgamontes. Desses microgamontes apenas uma pequena fração será capaz de fertilizar macrogamontes para dar origem ao zigoto. Ao redor do zigoto forma-se uma parede composta por grânulos de hialina que dará origem ao oocisto. Por último, os oocistos são libertados nas fezes e caso haja humidade e oxigénio suficientes dentro de um ou dois dias ocorrerá a esporulação, tornando-se organismos infetantes prontos a iniciar um novo ciclo (Bowman, 2014).

Figura 25- Ciclo de vida de *Eimeria* spp. (adaptado de Serrano, 2015).



Segundo o *Manual de manejo en Cautividad del linco ibérico* (2015), existem dois tipos de coccidiose que podem afetar os coelhos, a coccidiose hepática e a coccidiose intestinal.

A coccidiose hepática, provocada pela *Eimeria stiedae*, é considerada a mais perigosa (Patton, Hagen, Gorham & Flatt, 2008). A forma infetante é o oocisto esporulado, a via de infeção é a oral e a fonte de infeção são as fezes de animais infetados. Os animais jovens são mais afetados e os sinais clínicos quando ocorrem são o reflexo da disfunção hepática (Pereira, 2006). *E. stiedae*, assim como as outras coccídeas, penetra a parede intestinal, no entanto migra para os ductos biliares onde se reproduz. Os ductos biliares tornam-se tortuosos e contêm um vasto número de oocistos (Patton et al., 2008). Os oocistos de *E. stiedae* são alongados com aproximadamente 20µm x 37µm, têm parede lisa e coloração amarela clara (Lennox, & Kelleher, 2009).

O diagnóstico é realizado pela observação de oocistos nas fezes (Figura 26), mas a necropsia também se revela importante (Pereira, 2006) pela visualização de se lesões amareladas, de perfil alongado, correspondendo aos canais biliares afetados (Peleteiro, Pinho & Orvalho, 2001).

Figura 26- Oocisto de *Eimeria* spp. em amostra fecal na ampliação 40x (adaptado de Sahinduran, 2012).



A coccidiose intestinal é provocada por diferentes espécies de *Eimeria* (*Eimeria magna*, *E. irresidua*, *E. perforans*, *E. media* entre outras) (Monteiro, 2010) e surge em animais com diarreias galopantes e desidratações graves. É normal surgir durante períodos de stress que baixam as defesas do animal e permitem a multiplicação da coccídea (*Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015). O diagnóstico é confirmado pela presença de oocistos nas fezes ou em raspados da mucosa intestinal (Pereira, 2006).

O controlo da coccidiose passa pelas boas práticas de manejo e higiene (limpeza diária das jaulas), pela eliminação dos coelhos infetados associado ao exame de fezes de animais em quarentena (Pereira, 2006) e pela limpeza com vapor de água a 120°C uma vez que os oocistos são resistentes à maioria dos desinfetantes (*Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015)

Na prática clínica a identificação exata das espécies de *Eimeria*, para além de ser difícil por partilharem as mesmas características microscópicas, não é de extrema importância uma vez que as opções terapêuticas são as mesmas (Lennox, & Kelleher, 2009).

A encefalitozoonose é uma doença causada pelo parasita microsporídeo que afeta principalmente o coelho doméstico- *Encephalitozoon cuniculi*. Para além do coelho, esta espécie está descrita em diversos mamíferos entre eles o gato, carnívoros selvagens (raposas) e no Homem (Costa, 2012).

A infeção nos coelhos ocorre através da ingestão de alimento contaminado com urina infetada, inalação de esporos (estádio maduro e infetante dos microsporídeos) ou a via transplacentária. O ciclo de vida de *E. cuniculi* inicia-se quando os esporos entram em contacto com o organismo, dirigem-se ao trato intestinal e infetam as células do hospedeiro (Costa, 2012).

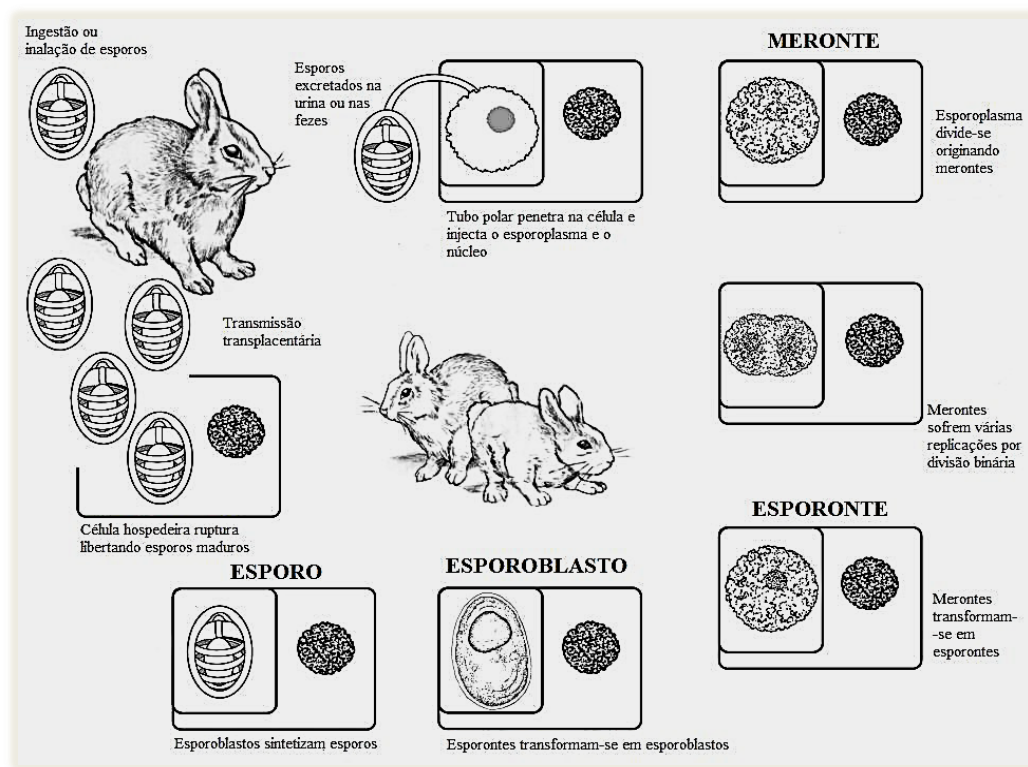


As células do sistema fagocítico mononuclear estão entre as que o agente coloniza e juntamente com os macrófagos disseminam-no pelo hospedeiro. De seguida, os organismos passam pela fase de merogonia (divisão binária e proliferação) e depois segue-se a fase de esporogonia (produção de esporoblastos e maturação em esporos). As células infetadas acabam por ruturar e libertar os esporos que invadem novas células (Figura 27) (Costa, 2012).

Neste caso, o diagnóstico não deve ser baseado nas coprologias, mas sim na serologia que confirma a exposição ao agente (Vetset, 2014).

Os animais afetados apresentam apatia, tremores, paralisia e perda de peso. No controlo deste agente, deve ser aplicado a lavagem e desinfecção de bebedouros e comedouros (com atenção à urina) com iodóforos a 0,5% (*Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

Figura 27- Ciclo de vida de *Encephalitozoon cuniculi* (adaptado de Valente, 2009).

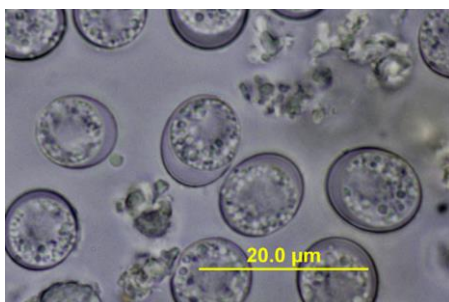


Segundo os autores Patton et al., (2008), *Toxoplasma gondii* afeta tanto coelhos domésticos como selvagens. A toxoplasmose nos coelhos é provavelmente mais comum do que se pensa uma vez que pelo menos 50% dos animais assintomáticos apresentam Ac, confirmando a exposição a este agente. Esta condição é apoiada por Fernández-Aguilar et al., (2013) que detetaram a presença de Ac em 34 de 298 lebres ibéricas sem lesões macroscópicas.

Os coelhos infetam-se ao ingerir fezes de felinos que estão a eliminar oocistos (Figura 28), pela ingestão de ração contaminada ou ainda pela transmissão vertical (Pereira, 2006; Patton et al., 2008).

O controlo deste agente passa pela eliminação dos animais infetados e prevenção do contato com as fezes de felinos (Pereira, 2006). Apesar desta doença ter potencial zoonótico os coelhos não eliminam os oocistos infetantes (Lennox, & Kelleher, 2009).

Figura 28- Oocistos não esporulados de *T. gondii* (adaptado de Dubey, Lindsay & Lappin, 2009).



### 13. Medidas de higiene e biossegurança

Num Centro de cria aloja-se um considerável número de exemplares numa superfície relativamente pequena pelo que o risco de transmissão de doenças é elevado, podendo produzir graves consequências nos resultados do programa (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

A melhor maneira de prevenir infeções é evitar o contato direto com as mesmas, por isso a profilaxia e higiene são ações obrigatórias em todas as etapas de gestão do Centro (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

As medidas profiláticas mais importantes incluem a proteção do pessoal, o controlo da alimentação e o controlo do ambiente (GMSLI, 2014).

Os profissionais dos Centros de cria estão em permanente ajuste às medidas de biossegurança consoante a tarefa que estão a desempenhar (GMSLI, 2014). O uso de equipamento de proteção individual (EPI) é de extrema importância tanto no trabalho com os exemplares de cativeiro como nos de vida livre. O EPI deve incluir bata ou mono descartável, luvas descartáveis de látex, vinil ou nitrilo e máscara. Todo o EPI deve ser descartado quando se termina um procedimento. O objetivo deste procedimento é evitar a transmissão de agentes patogénicos das pessoas para os lince e vice-versa (GMSLI, 2014).

A entrada nos cercados está também sujeita a medidas restritas de biossegurança como os pedilúvios e uso de roupa e calçado específico para a tarefa (GMSLI, 2014).

Para evitar o contacto com a fauna exterior existem barreiras físicas como valas e redes em todo o perímetro do Centro (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

A ordem de trabalhos dos tratadores e veterinários deve ser organizada de forma a que se for necessário entrar na quarentena, esta seja a ultima tarefa a ser realizada de forma a evitar a transmissão de agentes da quarentena para outras instalações. Tratadores e veterinários devem trabalhar em permanente contacto e troca de informação (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

Os alimentos são uma porta de entrada de agentes patogénicos. Em 2006 ocorreram vários episódios de vómitos em adultos de onde se isolou *Clostridium* spp. através de culturas microbiológicas. Atualmente a carne de coelho é comprada em estabelecimentos que vendem também para consumo humano o que permite diminuir os riscos de contaminação (Vargas et al., 2009).

Deve ser estabelecido um sistema de descrição dos alimentos (anexo 1), da higienização da cozinha (anexo 2), da temperatura de refrigeração e de congelação (anexo 3) e do controlo da qualidade da água (anexo 4). O objetivo deste controlo é evitar o desenvolvimento de agentes patogénicos no alimento e na água (GMSLI, 2014). O controlo dos riscos associados à alimentação baseia-se no sistema *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP) (GMSLI, 2014).

O plano de alimentação dos lince em cativeiro baseia-se em três dias de coelho vivo, dois dias de coelho morto, um dia ave (perdiz, codorniz ou frango) e um dia de jejum (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

O alojamento dos coelhos nos Centros de cria deve seguir ao máximo as mesmas recomendações que são aplicados às explorações. No Centro de Silves há uma instalação construída propositadamente para o efeito, tendo em conta as necessidades fisiológicas desta espécie. É fundamental tentar manter um número adequado de coelhos nas jaulas, de forma a conseguir um ambiente sanitário ótimo, um fácil acesso ao comedouro e bebedouro e evitar lutas (*Manual de manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015)

As normas de biossegurança na instalação das presas vivas incluem o uso do pedilúvio, roupa adequada, luvas descartáveis e utensílios de limpeza de uso exclusivo. A limpeza das jaulas e o fornecimento de ração e água é feito diariamente; a limpeza profunda da instalação é feita uma ou duas vezes por semana.

O plano de vigilância das presas nos Centros de cria indica a análise da água da bebida a cada seis meses e o controlo periódico da ração e do ambiente (ventilação, temperatura e humidade), com o objetivo de minimizar a possibilidade de doenças criadas pelas condições de alojamento e manejo (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

As peças de talho são preparadas na cozinha que possui um pedilúvio à entrada (Figura 29) e material para uso exclusivo dessa instalação. Na desinfecção da cozinha e outras instalações usa-se o desinfetante Virkon® (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

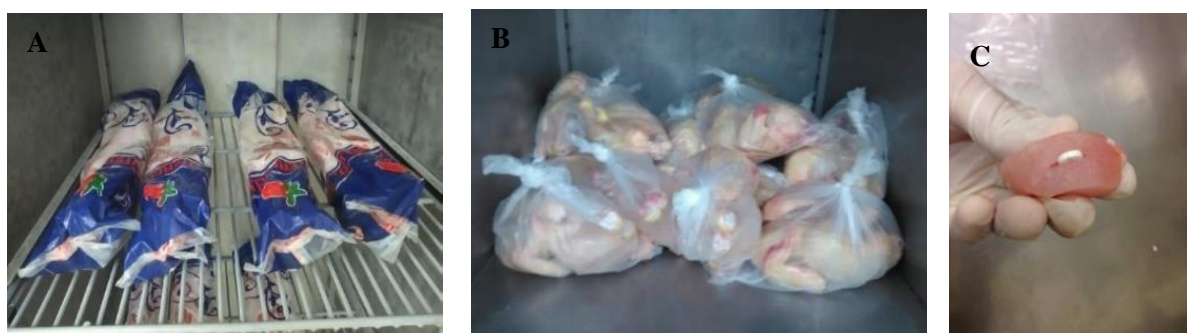
Figura 29- Pedilúvio à entrada da cozinha (foto original).



A carne de coelho e de frango é armazenada em sacos individuais, da forma mais plana possível, dentro de refrigeradores ou arcas congeladoras até ser preparada pelos tratadores (figura 30A e 30B). O ideal é proporcionar aos lince a carne fresca sem ter passado por um processo de congelação-descongelação de forma a manter as qualidades nutricionais do alimento (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

Sempre que é necessário dar medicação oral procura-se colocar o medicamento numa peça pequena de carne para assegurar a sua correta e total ingestão (figura 30C) (*Grupo de Manejo en Cautividad del lince ibérico*, 2015).

Figura 30- A: carne de coelho embalada, B: carne de frango embalada, C: preparação da medicação oral (fotos gentilmente cedidas pelo tratador Tiago Lopes)



A presença de agentes patogénicos nos Centros de cria é controlada através da realização de um painel de análises para deteção dos mesmos. Esse painel recomenda a avaliação da carga parasitária através da pesquisa de sarna e de coprologias, a avaliação da carga microbiológica através da pesquisa de *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Shigella*, *E. coli*, *Pasteurella* e coproculturas e a avaliação da presença de fungos (dermatófitos). Este controlo pretende garantir a ausência de agentes patogénicos nos exemplares em cativeiro e nas instalações, favorecendo um ambiente seguro para todos (GMSLI, 2014).

## **II- Programa de conservação *ex situ* de *Lynx pardinus* (Temminck, 1827): avaliação da eficácia do protocolo de medicina preventiva no controlo da carga parasitária no lince ibérico e sua presa *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) no Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico, em Portugal.**

### **1. Objetivos do estudo**

A presente dissertação ambiciona avaliar o protocolo de desparasitação do CNRLI, a propósito da sua eficácia na desparasitação interna e externa de lince ibéricos (*Lynx pardinus*) em cativeiro.

Para atingir esse objetivo foram colhidas amostras fecais, sangue e pelo dos animais residentes e amostras fecais da sua principal presa, o coelho manso (*Oryctolagus cuniculus*).

As amostras fecais das presas foram úteis para entendermos se o quadro clínico apresentado por alguns lince estaria relacionado com parasitismo gastrointestinal transmitido pela sua principal fonte de alimentação.

O controlo da carga parasitária no lince ibérico e no coelho manso permite manter uma condição hígida dos animais residentes e assim garantir o sucesso reprodutivo dos mesmos. Como consequência deste controlo, a possibilidade de transmissão de agentes parasitários às populações selvagens e ao Homem também será reduzida.

### **2. Área de estudo e amostragem**

O estudo foi realizado no CNRLI, localizado no concelho de Silves, distrito de Faro (Figura 31). Este Centro dispõe de diversas instalações nas quais se incluem 16 cercados (anexo 5), centro de coordenação, apoio técnico I, apoio técnico II, quarentena, cozinha, instalação das presas vivas, clínica, laboratório e instalação de cria mista.

A amostra do estudo é representada por 32 lince ibéricos (adultos e crias) e 585 coelhos mansos. Os lince pertencem ao sexo masculino (n=12) e feminino (n=10), com idades compreendidas entre os 9 meses e os 12 anos e com pesos entre 8,36 kg (“Kaida”) e 16,65 kg (“Drago”). Os coelhos são do sexo masculino e feminino, com cerca de 30 dias e entre 800-900 gramas de peso vivo.

Figura 31- CNRLI (foto gentilmente cedida pelo estagiário Tomás Martins)



### **3. Material e métodos**

Foram analisadas 416 amostras fecais (308 amostras de felinos e 108 amostras de coelhos) segundo as técnicas coprológicas de sedimentação espontânea e técnica de Willis, 11 amostras de sangue através da realização de esfregaços sanguíneos e 13 amostras de pelo através de tricogramas.

#### **3.1 Material**

O material foi fornecido pelo laboratório do CNRLI e pelo Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Nas coprologias foi usado o MO, lâminas e lamelas de vidro, solução saturada de açúcar, frascos para colheita de urina, tubos de ensaio, suporte para os tubos de ensaio, luvas de látex, pipetas de Pasteur, peneira de rede fina, colher de metal e sacos de plásticos com fecho hermético.

Para os esfregaços sanguíneos utilizou-se o MO, pipetas de Pasteur, lâminas de vidro, solução fixadora, corante eosinofílico e corante basofílico.

Por último, os tricogramas precisaram de pinça mosquito, envelopes de papel, MO, lâminas e lamelas de vidro e lactofenol.

#### **3.2 Métodos**

##### **3.2.1 Método de colheita no Lince ibérico**

As amostras fecais dos felinos foram colhidas pelos tratadores durante as tarefas diárias que se realizam nos cercados de forma a perturbar o mínimo possível a rotina dos animais.

A colheita de fezes seguiu o esquema de colheita de três dias consecutivos numa semana de cada mês durante seis meses.

Estas amostras pertencem a animais adultos e a ninhadas, tal como indicado pelo protocolo de colheita de fezes do lince ibérico.

De acordo com Sousa et al (2016), as amostras devem ser armazenadas num recipiente estanque e impermeável para evitar a entrada de ar que possibilita o desenvolvimento de formas parasitárias e impede a desidratação da amostra. Neste estudo as amostras foram colhidas para sacos de plástico hermeticamente fechado indo ao encontro das sugestões dos autores acima referidos. Todas as amostras foram identificadas com o nome do animal, data da colheita e refrigeradas até à análise (Figura 32A).



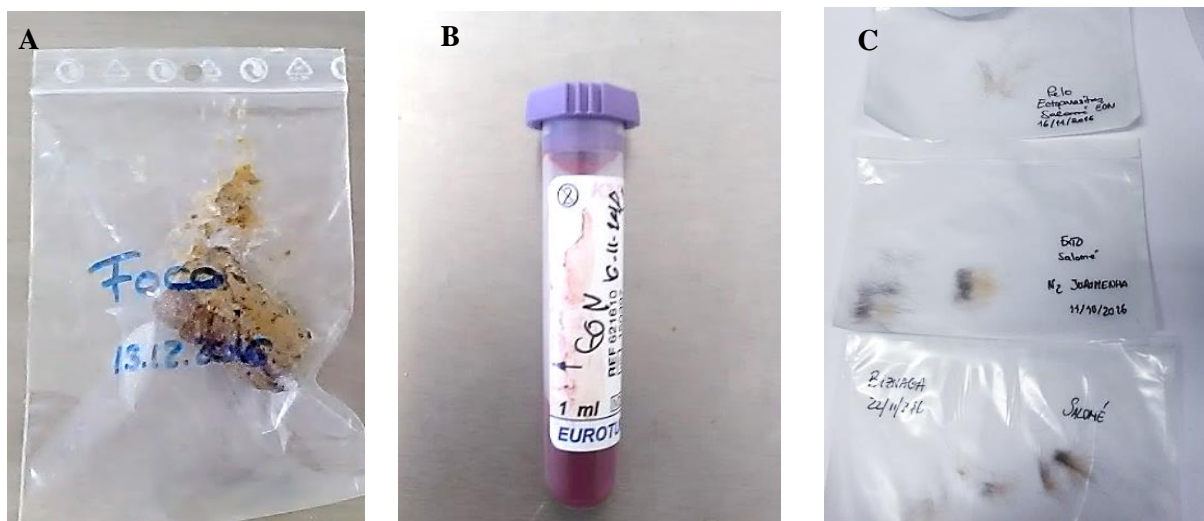
O anexo 6 e 7 exemplificam a colheita de amostras do mês de janeiro, tendo sido elaboradas tabelas semelhantes para os restantes meses na esperança de documentar todas as alterações microscópicas e macroscópicas observáveis. A avaliação macroscópica das fezes foi importante para auxiliar o diagnóstico coprológico na medida em que nos podem fornecer informações sobre o estado hígido do animal (Sousa, 2016).

As amostras de sangue foram obtidas durante os check-ups realizados na clínica do CNRLI, sempre sob anestesia geral e com o acompanhamento dos médicos veterinários presentes. O sangue foi colhido para um tubo EDTA do qual se extraiu uma gota para realização do esfregaço (Figura 32B). Para facilitar a identificação das amostras, as lâminas continham o nome do animal e data da análise.

As amostras de pelo foram colhidas durante os exames sanitários dos felinos, nas mesmas condições que a colheita de amostras de sangue. O método de colheita foi tração da pele com pinça mosquito. O pelo foi armazenado à temperatura ambiente em envelopes de papel fechados até á data da análise (figura 32C)

Da mesma forma foram elaboradas tabelas para registo de alterações nas amostras de sangue e pelo, de acordo com os anexos 8 e 9.

Figura 32- A: amostra fecal, B: amostra de sangue, C: amostras de pelo (fotos originais).





### 3.2.2 Método de colheita no Coelho Europeu

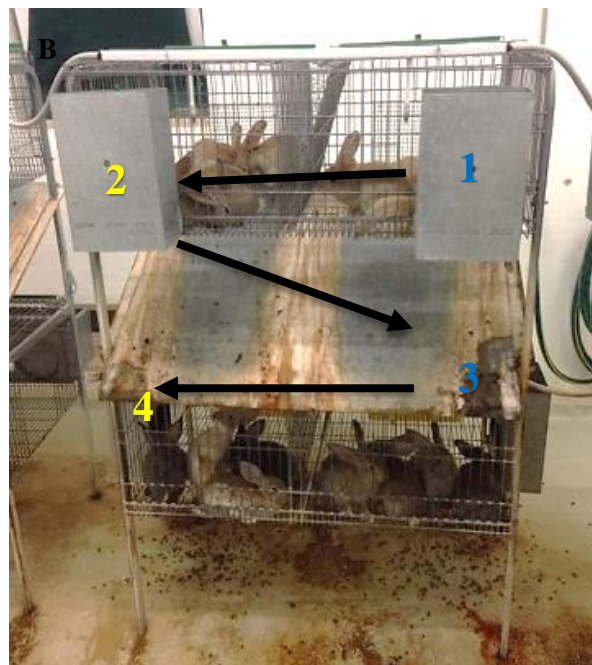
As amostras das presas foram colhidas na instalação das presas vivas pela estagiária. Na segunda feira de cada mês colhia-se uma amostra fecal de cada jaula, diretamente do pavimento da instalação.

Os coelhos são distribuídos por 22 jaulas (cerca de 6 animais por jaula) com acesso à água, feno e ração, das quais uma se destina à quarentena de coelhos suspeitos de alguma infecção.

Foram colhidas mensalmente 22 amostras fecais com exceção dos meses em que não havia animais na jaula de quarentena (em dezembro e janeiro) (Figura 33A)

As jaulas foram identificadas com números do 1 ao 22, sendo a jaula 13 a de quarentena. A colheita iniciava-se sempre na jaula nº1, seguindo para a jaula imediatamente ao lado (jaula nº 2), de seguida as jaulas de baixo (jaula nº 3 e jaula nº 4) e assim sucessivamente até à jaula nº 22 (Figura 33B).

Figura 33- A: Amostras de fezes (foto original); B: Instalação das presas vivas (foto gentilmente cedida pelo tratador Tiago Lopes).



#### 4. Coprologias

As amostras fecais foram analisadas segundo o método de Hoffman, Pons & Janer e o método de Willis. Estes exames permitem separar as formas parasitárias dos constituintes fecais e concentrá-las de modo a facilitar a sua observação (Zajac & Conboy, 2012)

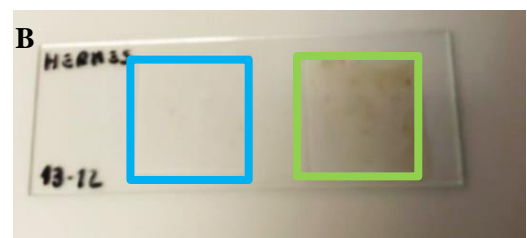
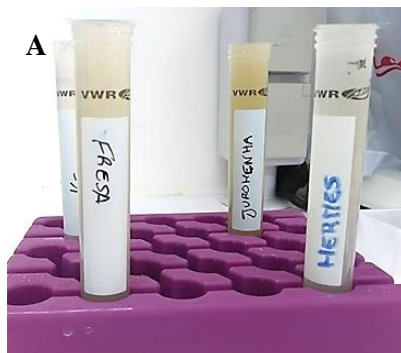
O método de Willis baseia-se no conceito de flutuação dos ovos numa solução de cloreto de sódio (NaCl), ou de açúcar, com cerca de 1,30 de densidade. Segundo este método, os ovos aderem a uma superfície de vidro com a qual entram em contacto (Willis, 1921).

O método de Hoffman, Pons & Janer é um método de concentração que se baseia na gravidade e precipitação dos organismos (sedimentação espontânea) (Hoffman, Pons & Janer, 1934).

Neste trabalho as técnicas foram realizadas em simultâneo. Em primeiro lugar era retirada uma pequena quantidade de fezes do bolo fecal original e colocada num frasco de colheita de urina adaptado para o efeito. Sobre essas fezes adicionava-se 20 mililitros (ml) de solução saturada de açúcar, homogeneizava-se com a ajuda de uma colher de metal e filtrava-se para um novo frasco, através de uma peneira de rede fina. A amostra filtrada era depois depositada num tubo de ensaio de 15 ml identificado com o nome do animal ou número da jaula até criar um menisco convexo sobre o qual era colocada uma lamela de vidro (figura 34A). A preparação ficava imóvel durante 15 a 20 minutos para dar tempo aos ovos/oocistos “leves” de flutuarem e aderirem à superfície de vidro. Depois deste período a lamela era colocada sobre uma lâmina de vidro (polo direito da lâmina). Concluída a técnica de Willis, descartava-se cuidadosamente o sobrenadante, homogeneizava-se o sedimento e retirava-se uma gota para colocar entre lâmina e lamela (polo esquerdo da lâmina) (figura 34B).

Após a preparação da lâmina, a amostra era observada ao MO primeiro numa ampliação de 10x para detetar a existência de elementos parasitários e depois numa ampliação maior (40x) para tentar identificar o género parasitário.

Figura 34- A: Amostras de lince em tubo de ensaio; B: Lâmina pronta para observação (fotos originais).



Nota: O quadrado azul corresponde à técnica de flutuação e o quadrado verde à técnica de sedimentação.

## 5. Esfregaços sanguíneos

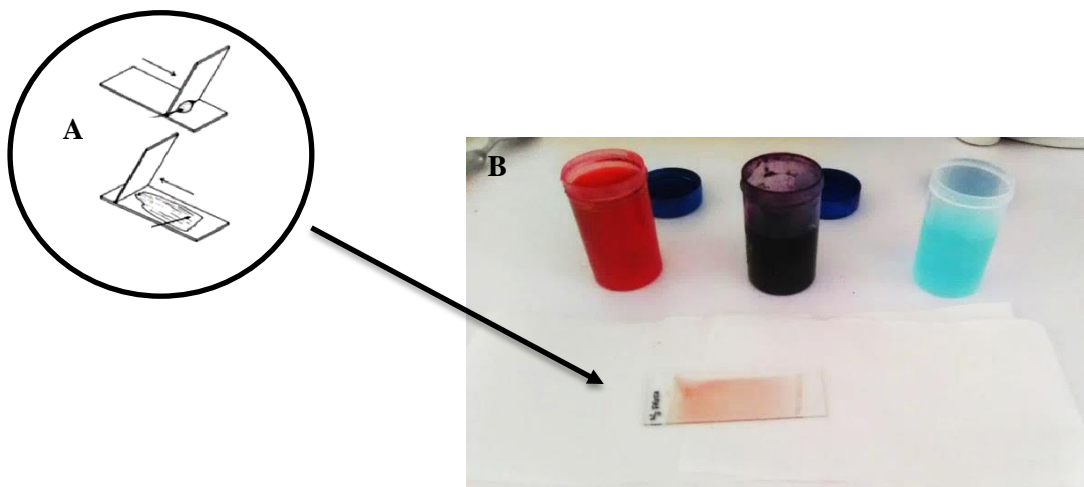
Os esfregaços sanguíneos foram realizados com o objetivo de detecção de hemoparasitas nos exemplares em cativeiro. Para a sua elaboração utilizou-se uma gota de sangue fresca colocada sobre uma lâmina de vidro. Com o auxílio de outra lâmina, procurou-se formar um ângulo próximo dos 30° em frente à gota de sangue e segurando firmemente a lâmina estendeu-se o sangue num movimento rápido e único (figura 35A) (Villiers, 2010).

Depois de seco, o esfregaço foi corado com o método Diff Quick®. Esta é uma técnica de coloração rápida para esfregaços com sangue capilar ou sangue venoso fresco que utiliza como reagentes a eosina (solução I), a tiazina (solução II) e o metanol (solução fixadora) (figura 35B) (Microptic, 2017).

Esta coloração consiste em mergulhar o esfregaço sanguíneo 5 vezes (cada vez durante 1 segundo) na solução fixadora, fazendo o mesmo para a solução I e para a solução II. Em cada imersão devemos deixar escorrer o excesso de corante (Microptic, 2017).

Após coloração, as lâminas foram passadas por água corrente e secas à temperatura ambiente para se proceder à visualização pelo MO na ampliação de 40x e 100x.

Figura 35- A: Técnica do esfregaço (adaptado de Zajac & Conboy, 2012); B: Coloração Diff- Quick ® (foto original).



## 6. Tricogramas

As amostras de pelo tiveram como finalidade a detecção de ectoparasitas utilizando a técnica do tricograma. Para esta técnica retirou-se uma amostra dos pelos colhidos (cerca de 20 pelos) (figura 36A) e colocou-se numa lâmina de vidro com uma gota de lactofenol azul cobertos por uma lamela (figura 36B). Todas as lâminas estavam identificadas com o nome do animal e data da colheita.

As amostras foram observadas ao MO na ampliação de 10x no dia da análise e 24 horas depois com a finalidade de dar tempo ao lactofenol de esclarecer a amostra, aumentando as possibilidades de obter um resultado positivo.

O lactofenol atua como esclarecedor facilitando a visualização de formas parasitárias, passo especialmente importante na detecção de dermatófitos uma vez que estes não possuem pigmentos e o lactofenol irá corar as estruturas de azul permitindo a sua visualização (Moreia, 2009).

Figura 36- A: Tração do pelo com pinça mosquito (adaptado de Guaguère, 2006); B: Lâmina com lactofenol azul (foto original).



## **7. Análise estatística**

Tendo em conta a quase inexistente fauna parasitária das espécies em estudo, pouca análise estatística pode ser realizada. Porém, a generosa amostragem é representativa o suficiente para calcularmos a prevalência de doença, segundo as informações da Ausvet, *EpiTools epidemiological calculators*.

Foi pressuposto um intervalo de confiança de 0.95 (95%) e um nível de especificidade e sensibilidade de 1 (100%) para os exames de diagnóstico aplicados.

## 8. Resultados

Das 308 análises coprológicas realizadas aos exemplares em cativeiro foi detetada uma forma parasitária de interesse clínico e sanitário, a coccídea *Eimeria* sp.

No mês de janeiro, aquando da realização da técnica de sedimentação simples, foi observado um oocisto esporulado na amostra da “EraxFado” (Figura 37A) e um oocisto não esporulado na ninhada da “Juromenha” (Figura 37B).

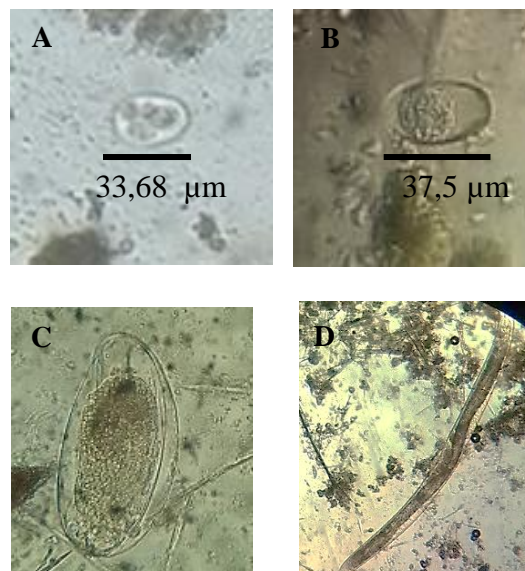
Outros elementos encontrados foram pseudoparasitas nomeadamente ovos de ácaros (Figura 37C) e nematodes de vida livre (Figura 37D) detetados na técnica de sedimentação simples. Os ovos de ácaros foram observados nas amostras da “EnebroxKaida”, “Calabacin”, “Madagáscar”, “Mouro” e “Magreb” no mês de janeiro e em março no “Mouro”. Os nematodes de vida livre foram detetados em fevereiro nos irmãos “Mouro” e “Magreb”.

Do ponto de vista macroscópico, nenhuma das amostras apresentou alterações.

As amostras de pelo e sangue obtiveram apenas resultados negativos, tal como as coprologias dos coelhos.

De acordo com os testes epidemiológicos, a prevalência de doença por *Eimeria* sp. no lince ibérico no CNRLI é de 0.0065 (0.65%) com um intervalo de confiança entre [0.0018;0.0234]. A prevalência de hemoparasitas e ectoparasitas é de 0 (0%), com um intervalo de confiança entre [0;0.2588] e [0;0.2281], respetivamente. Nos coelhos, a prevalência de *Eimeria* sp. é de 0 (0%) com um intervalo de confiança entre [0;0.0347].

Figura 37- A: Oocisto esporulado de *Eimeria* sp.; B: Oocisto não esporulado de *Eimeria* sp.; C: Ovo de ácaro; D: Nematode de vida livre (forma adulta) (fotos originais).



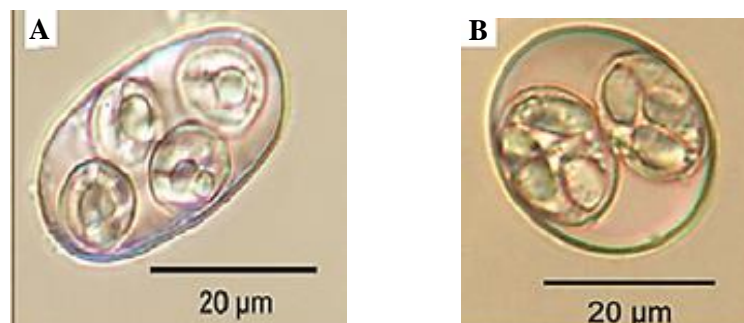
## 9. Discussão

Após a verificação dos resultados obtidos pretendemos sugerir hipóteses que justifiquem a fauna parasitária encontrada.

O protozoário observado pertence ao género *Eimeria*, filo Apicomplexa, subclasse Coccidea e família Eimeridae. Nesta família fazem parte outros protozoários denominados *Isospora* e *Cystoisospora* (Aguilera, 2010).

Neste estudo, o género *Eimeria* foi identificado pelas características microscópicas do oocisto que revela uma forma arredondada com quatro esporocistos, cada um com dois esporozoítos (Figura 38A). Desta forma, diferenciou-se o género *Eimeria* do género *Cystoisospora* uma vez que este apresenta dois esporocistos com quatro esporozoítos cada um, como representado na figura 38B (Bowman, 2014). A observação dos oocistos do género *Eimeria* nas fezes do lince ibérico pode representar um caso de pseudoparasitismo uma vez que os carnívoros, tal como o lince ibérico, não são hospedeiros de *Eimeria*. Segundo Bowman (2014), *Eimeria* sp. é uma coccídea que parasita o intestino de diversos mamíferos (exceto carnívoros) e aves. Por outro lado, o género *Cystoisospora* poderá ser mais facilmente detetado no lince ibérico, já que é uma espécie detetada em felídeos domésticos e não domésticos. De acordo com Carvalho, de Massad, Bezerra, de Oliveira, e Lopes, (2004) *Cystoisospora felis* e *C. rivolta* são parasitas intestinais comuns em gatos domésticos e felídeos selvagens. Os felinos infetam-se através da ingestão de oocistos esporulados ou através da ingestão de tecidos de animais infetados. Ainda que não tenha sido possível a medição dos oocistos encontrados, segundo Sousa et al., (2016), a maior parte das formas parasitárias utilizadas para diagnóstico microscópico medem entre 10 µm a 100 µm de comprimento. De acordo com a figura 38A, os oocistos de *Eimeria* medem 20 µm (Leclaire & Faulkner, 2014).

Figura 38- A: Oocisto de *Eimeria* sp; B: Oocisto de *Cystoisospora* sp. (adaptado de Leclaire & Faulkner, 2014).





Para justificarmos os resultados obtidos precisamos de ter em conta diversos fatores. **O 1º fator a ter em conta é a dieta do animal** pois estamos a colocar como hipótese a infeção dos lince pela ingestão de coelhos infetados.

Sabemos que o consumo de animais como parte integrante da dieta aumenta o risco de infeção parasitária (Lopes, 2013). O plano de dieta no CNRLI é elaborado pelos tratadores e constitui coelho vivo, carne de coelho e carne de frango. Cada lince tem o peso do alimento estipulado de acordo com o seu peso, variando entre 800 a 900 grama de coelho vivo, 600 a 1000 grama de coelho morto e 500 a 1000 grama de frango.

O coelho selvagem foi retirado por uma questão de redução de custos e por se ter concluído que não existia uma grande diferença na adaptação ao habitat natural entre crias que caçavam coelho selvagem e crias que caçavam coelho manso.

Normalmente, a alimentação é efetuada no maneio da manhã (perto das 8 horas), porém no verão os horários alteram-se devido ao aumento da temperatura. Esta prática permite evitar a deterioração e contaminação do alimento que ocorreria mais facilmente no maneio da manhã, diminuindo a probabilidade de doenças transmitidas por alimento contaminado.

Os coelhos fornecidos como presa viva são criados num sistema de produção intensiva cujo criador foi aprovado por cumprir todas as normas de biossegurança exigidas pelo CNRLI. Estes animais chegam ao Centro com 30 dias de idade e são transportados pelo produtor em veículo próprio, dentro de caixas de plástico, cada com 10 animais. De acordo com Bernardino (2017), os animais jovens tendem a estar mais parasitados por *Eimeria* sp. do que os adultos apresentando uma eliminação contínua de oocistos, ao contrário dos animais adultos, que se tornam portadores assintomáticos por terem desenvolvido imunidade. Como os coelhos recebidos têm apenas 1 mês de idade, é possível a presença de parasitismo abundante com eliminação de oocistos nas fezes.

Como consequência da infeção, os animais jovens apresentam um quadro clínico gastrointestinal, indo ao encontro das observações de diarreia e perda de peso nos coelhos em estudo, com exceção do mês de janeiro. O facto de no único mês de resultados positivos nos lince (janeiro), não se ter registado qualquer sinal clínico nos coelhos assim como nenhum resultado positivo nas suas coprologias, torna os resultados obtidos mais desafiantes levando-nos a pensar sobre as restantes possibilidades etiológicas para sinais clínicos gastrointestinais nos coelhos e outras fontes de infeção para os lince.



O stress sofrido pelos animais durante o transporte e durante o desmame (perto dos 28 dias de idade) também pode ter favorecido o aparecimento de sinais clínicos. Monteiro (2010) considera que o desmame e o stress em geral favorecem o crescimento de coccídeas, entre elas a *Eimeria*.

O mesmo autor refere que as coprologias são o diagnóstico de eleição para a deteção de coccidiose em explorações cunículas apresentando resultados reais quando são feitas várias colheitas diretamente das jaulas. Neste estudo foi colhida apenas uma amostra de cada jaula o que pode ter prejudicado os resultados, porém, o número de amostras analisadas foi suficiente para ser representativo da população. Para que a amostragem seja representativa assume-se uma análise de pelo menos 10% de toda a população (Madeira de Carvalho, 2008). No presente trabalho, foram colhidas 108 amostras fecais a uma população de 585 coelhos, o que significa uma análise de 18% da população.

Os coelhos são desparasitados antes de chegarem ao CNRLI, no entanto, a aplicação de coccidiostáticos/coccidicidas não impede a infeção por diversos motivos, entre eles o tratamento precoce, eficácia do produto e reinfeção tardia (L. Carvalho, comunicação pessoal, outubro, 20, 2017).

Deve ter-se em atenção que a coccidiose é transmitida das mães aos láparos durante a 3<sup>a</sup>-4<sup>a</sup> semana de vida e que estudos comprovam a eliminação de oocistos por animais jovens (Bernardino, 2017; Monteiro, 2010). Nos pavilhões de animais com idades entre os 11 e os 56 dias obtiveram-se resultados de 49.000 oocistos por grama de fezes (OPG). Acima dos 4000-5000 OPG, deve ser considerado um eventual tratamento profilático (Monteiro, 2010). Nos coelhos, as opções de tratamento incluem soluções medicamentosas na ração (salinamicina, sulfamidas, diclazuril) ou água da bebida (toltrazuril, sulfadimetoxina) (Monteiro, 2010).

Ainda que não se tenha encontrado *Eimeria* sp. nas coprologias das presas vivas, Luque-Martínez (2014) afirma que a espécie mais prevalente em *Oryctolagus cuniculus* é *E. perforans*, seguida por *E. piriformis* e *E. coecicola*.

Para além da realização de coprologias, o controlo epidemiológico nos Centros de cria inclui a necropsia dos coelhos que morrem e a análise da ração fornecida (GMSLI, 2014). Apesar de estes elementos não terem sido objeto de estudo, não se tem conhecimento de alterações em nenhum destes pontos durante o período de estudo.

Considerando que os coelhos não estavam parasitados (o que está de acordo com os resultados das coprologias), teríamos que optar por **outras fontes de infecção nomeadamente a carne de coelho e de frango assim como outras pequenas presas a que os lince têm acesso nos cercados, constituindo a nossa 2ª hipótese.**

A carne de coelho e de frango (“presa morta”) é fornecida por um talho de Silves e chega ao CNRLI à quinta feira, refrigerada e embalada individualmente em sacos de plástico. Tanto o coelho como o frango são hospedeiros de *Eimeria*. Como os oocistos desta coccídea morrem apenas a temperaturas inferiores a 30°C negativos (Deniz, 2009) e a refrigeração da carne ocorre a 4-5°C, poderá haver uma contaminação das carcaças com oocistos.

As presas que podem aparecer nos cercados são pequenos repteis (cobras e osgas), várias aves (rola, pisco de peito ruivo, pardal, codorniz, melro, pombo), roedores (ratos do campo) e anfíbios (sapo e rã verde). Estes animais geralmente não são consumidos, mas sim mortos durante os episódios de caça. Os escassos episódios de consumo estão registados na tabela seguinte.

Tabela 2- Presas consumidas nos cercados do CNRLI entre 2015/16 (tabela gentilmente cedida pela tratadora Vanessa Requeijão).

Data	Quantidade	Espécie	Animal	Cercado	Consumo	Como matou	Local	Vómito/Purga	Obs.
09/2015	2	Rato do campo	Junquinha	16	Sim, metade.	?	Debaixo da penthouse.	Não	Recente.
07/2015	1	Pássaro	Fresco	12	Sim	?	Campeio	Não	Só as penas
07/2016*	1	Osga	Kaida	10	Sim	?	Maneio grande	Não	
07/2016	1	Ave	Jabugo	3	Sim	?	Maneio grande	Não	Muito recente
08/2016	1	Pardal	M's	1	Sim	?	Campeio	Não	Só cabeça
08/2016	1	Osga	Jabaluna	9	Sim	Dentadas	Campeio	Sim	Recente

\*O consumo no ano de 2016 não corresponde ao período de estágio.

**Uma 3ª sugestão é a contaminação da água para consumo.** A água é analisada anualmente para as características físico-químicas, anualmente e sempre que haja alguma suspeita para microrganismos e de seis em seis meses sobre resíduos de antibióticos e organofosforados (GMSLI, 2014). Este veículo de contaminação não foi analisado no presente estudo, mas não se tem conhecimento de alterações.

**O 4º fator está associado à ingestão de plantas com propriedades antiparasitárias e purgativas**, o que pode diminuir a carga parasitária nos hospedeiros (Lopes, 2013). Nos cercados, os lincs têm acesso a diversos tipos de vegetação que poderiam fornecer estes elementos de defesa.

**A 5ª sugestão está relacionada com a imunidade do hospedeiro.** A mucosa intestinal secreta vários anticorpos que fornecem proteção contra agentes patogênicos, como as imunoglobulinas (Ig) G, IgM, IgE e IgA (Castro, 1990).

Apesar das fortes evidências de que os anticorpos oferecem proteção contra microrganismos, há apenas alguns exemplos que demonstram o envolvimento contra parasitas.

Os parasitas entéricos não produzem toxinas análogas às enterotoxinas produzidas pelas bactérias, a sua patogenicidade está relacionada com a capacidade de fixar e/ou penetrar a mucosa do intestino.

O género *Eimeria* parece ser bloqueado por anticorpos monoclonais com especificidade para os esporozoítos (Castro, 1990). Não obstante, a imunidade a uma espécie de *Eimeria* não confere imunidade a outra espécie, por isso se diz que é uma imunidade espécie-específica. Os animais recuperados podem reinfetar-se, mas não apresentam sinais clínicos, desenvolvendo uma condição subclínica que favorece a perpetuação da doença através da transmissão para os mais jovens (Hidalgo Arguello & Cordelo del Campillo, 1996).

A “Era” e o “Fado” encontravam-se no mesmo cercado, como casal da época reprodutora 2017/18, quando foi observado o oocisto de *Eimeria* sp. Dessa forma, a amostra colhida poderá pertencer a qualquer um dos dois animais, não se podendo afirmar ao certo que animal estava a eliminar os oocistos. Porém, a fêmea apresenta maior susceptibilidade a uma infeção parasitária já que janeiro corresponde ao período de gestação e nesta fase, assim como durante o período de lactação, a imunidade das fêmeas pode estar diminuída. Nestas fases, as necessidades nutricionais aumentam e se não forem supridas potenciam a suscetibilidade a doenças parasitárias. Quando isso acontece, cargas parasitárias baixas podem prejudicar a conversão alimentar materna, causando problemas no desenvolvimento fetal (Silva, 2012).

Da mesma forma, a amostra correspondente à ninhada da “Juromenha” poderá pertencer a uma das três crias no mesmo cercado. Nesta altura, a progenitora já se encontrava num cercado diferente como parte do planeamento da época reprodutora. Tendo em conta que a ninhada era constituída por duas fêmeas e um macho, a probabilidade de ter sido uma fêmea é maior. Neste caso os animais tinham a mesma idade e nenhum se encontrava debilitado.

**Uma 6ª justificação diz respeito à densidade e grau de sociabilização dos animais.** Quanto maior for o grupo e quanto mais contactos intraespecíficos os indivíduos tiverem, maior é a hipótese de infeção e transmissão de parasitas e maior a riqueza parasitária (Lopes, 2013).

Durante o período de estágio, no máximo estiveram cinco animais no mesmo cercado o que aconteceu na ninhada da “Fruta” e onde todos os exemplares apresentaram resultados negativos. As amostras positivas pertenceram a casos em que estavam dois (“EraxFado”) e três (ninhada da “Juromenha”) animais no mesmo cercado, não se podendo descartar que tal facto tenha de algum modo favorecido a presença de parasitismo.

**Em 7º lugar está a relação de parasitismo com a massa corporal e a longevidade.** Animais que vivem mais tempo e possuem maior massa corporal podem facilitar a invasão parasitária (Lopes, 2013) o que não foi comprovado neste estudo uma vez que nem o animal com maior peso nem o animal mais velho apresentaram resultados positivos.

**O 8º fator considerado é a desinfecção das instalações.** Na instalação das presas vivas as jaulas são limpas diariamente e é feito o vazio sanitário com lixívia e Virkon® uma vez por semana (ao domingo). Estas medidas são consideradas eficazes uma vez que os resultados obtidos revelaram apenas pseudoparasitismo.

O corte da vegetação ocorre em alturas em que a vegetação se considera muito abundante e prejudica a visualização dos animais através das câmaras o que poderia permitir algum crescimento parasitário no ambiente dos cercados. Esta medida é aplicada de uma forma limitada pois o som das máquinas e a presença de pessoas prejudica o bem-estar dos animais.

**A 9ª hipótese que pode justificar os resultados é a questão do efeito da temperatura sobre a sobrevivência dos oocistos.** Sabe-se que os oocistos de *Eimeria* morrem em temperaturas superiores a 40°C e inferiores a 30°C negativos (Deniz, 2009). Em Silves, onde se localiza o CNRLI, o clima é quente e temperado. Agosto é o mês mais quente com uma temperatura média de 23.5°C e janeiro o mês mais frio com uma temperatura média de 12°C (Climate-data.org), o que nos permite assumir que a sobrevivência de oocistos no ambiente é possível.

A estação do ano em que se obtiveram resultados positivos foi o inverno (janeiro), o que vai ao encontro dos resultados obtidos por Deniz (2009) relativamente à infeção por *Eimeria* em ruminantes. Este autor refere que os oocistos se mantêm viáveis nas pastagens durante todo o inverno, podendo infetar os animais na estação de pastoreio seguinte.

As condições ótimas para a esporulação exógena dos oocistos são oxigénio, humidade e temperaturas entre os 24 e os 32°C. Nestas condições, a esporulação ocorre entre dois a cinco dias (Deniz, 2009).

Uma das amostras revelou um oocisto esporulado o que poderá ter acontecido pelas condições ambientais no local da defecação o permitirem. Apesar da temperatura média no mês de colheita destas fezes ser de 12°C é possível ter havido dias com temperaturas superiores o que juntamente com a humidade e oxigénio permitiu a esporulação.

Por outro lado, foi também observado um oocisto não esporulado o que pode ter acontecido pelo oocisto não ter tido tempo para esporular por estar menos desenvolvido do que o oocisto da primeira amostra. Ambas as amostras foram recolhidas no mesmo dia e à mesma hora, por isso as condições ambientais a que estavam sujeitas foram as mesmas.

A instalação das presas vivas mantém uma temperatura inferior a 27°C e os níveis de humidade relativa variam durante o dia, principalmente depois da limpeza (Lopes T., comunicação pessoal, setembro 15, 2017). Considerando a temperatura variável, poderia haver a possibilidade de existirem oocistos resistentes na instalação.

**Para a 10ª justificação, temos em conta os episódios de vômitos e anorexia** nos felinos exemplificados na tabela seguinte, no entanto esses sinais clínicos ocorreram sempre nos meses com diagnóstico coprológico negativo.

Tabela 3- Registos de sintomatologia gastrointestinal no CNRLI (tabela gentilmente cedida pela Dra. Joana Amil).

Lince	2016	2017
Biznaga	14-12 a 16-12: anorexia	
Calabacin	10-12 a 13-12: anorexia e vômito	6-02: purga/vômito com presença de sangue
Drago	10-12 a 13-12: anorexia	
Era	21-10 a 02-11: gastrite	
Foco	19-12: 3 vômitos de coelho morto (CM); 20-1: vômito de coelho vivo (CV).	
Flora	04-07: diarreia com "textura estranha" após dia de jejum.	
Fruta	29-02: vômitos (3x), 01-03: vômito (1x); 4-03: vômito (2x), ingestão irregular e desconforto; 16-05: 2 vômitos líquidos.	29-01: vômitos líquidos, esbranquiçados
Juromenha		3-02: vômito que pode ser de Juromenha ou K5; 18/02: vômito líquido.
Jabaluna	19-10: vômito de CM não digerido.	
Juncia	30-11: vômito de CM já seco; 06/12 a 16/12- Vômito e hiporexia.	1-01: vômito.
Jerte	15-12 a 17-12: vômitos (x2) e hiporexia.	

Como explicação para os sinais clínicos observados coloca-se a possibilidade de infeção ligeira nos lince com uma baixa eliminação de oocistos e portanto com menor probabilidade de obtermos uma amostra positiva. A análise das amostras na fase pré-patente da infeção (período em que ainda não há eliminação de formas parasitárias para o exterior) também resultaria num diagnóstico negativo (Figueiredo, 2007).

**Como 11ª justificação mencionamos o contraste entre lince em cativeiro e lince em liberdade.** Segundo Lopes (2013), os animais em liberdade têm territórios muito mais extensos o que favorece o maior contacto com diferentes parasitas, por terem acesso a diferentes fontes de água, diferentes fontes de alimentação e diferentes vetores. Os autores Snak et al. (2017) estão de acordo com esta informação, mencionando que a diversidade de helmintes em carnívoros em cativeiro é na maioria dos estudos, inferior à encontrada em espécies de vida livre. Isto acontece porque em cativeiro há uma limitação das fontes de infeção, o que desfavorece a infeção parasitária.

No Capítulo 10.1 desta dissertação também podemos verificar os diversos relatos sobre fauna parasitária no lince ibérico em liberdade (Castro, 1992; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca e Carvalho Varela, 1994; Torres, García-Perea, Gisbert & Feliu, 1998; Míllan & Dellibes, 2006; Acosta, León-Quinto, Bornay-Llinares, Simón & Esteban, 2011).

**O 12º fator a considerar é a riqueza parasitária.** A diversidade de parasitas aumenta com o aumento da fauna silvestre, porém a fauna silvestre ao redor do Centro, como as raposas (*Vulpes vulpes*) e os javalis (*Sus scrofa scrofa*), bem como a presença de animais domésticos é escassa uma vez que o Centro é um perímetro fechado e totalmente vedado, não se tendo registado a presença destes animais no período de estudo.

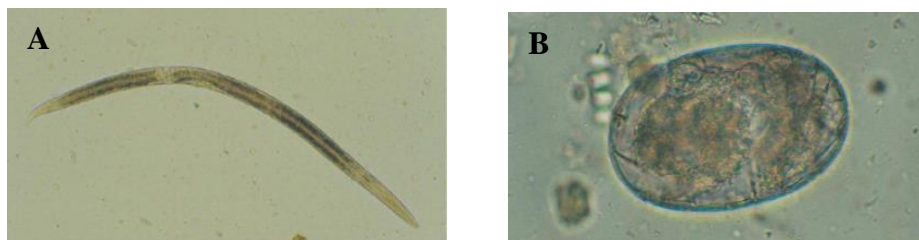
**Como 13ª justificação abordamos as técnicas aplicadas.** As amostras de sangue, pelo e fezes foram analisadas sempre com as mesmas técnicas o que pode de algum modo ter influenciado os resultados. As amostras de fezes foram analisadas com o método de Willis e o método da sedimentação simples que apresentam algumas limitações como a baixa sensibilidade para a deteção de cestodes, sendo mais indicadas para a pesquisa de ovos de nematodes (Thienpont et al, 1986). Outra causa para a ausência de cestodes pode estar relacionada com o facto destes elementos manterem a integridade dos proglotes quando eliminados nas fezes, o que interfere com a deteção dos ovos no exame coprológico (Lopes, 2013).

Segundo Menezes et al., (2013), o método de Hoffman (sedimentação simples) apresenta maior sensibilidade (73,3%) do que o método de Willis (flutuação) (47,3%) no diagnóstico de parasitoses intestinais, o que está de acordo com este estudo, onde os resultados positivos foram obtidos segundo o método de Hoffman.

**A presença de nematodes de vida livre (figura 39A) e os ovos de ácaros (figura 39B) correspondem a formas de contaminação ambiental da amostra fecal.** Estes pseudoparasitas são comuns nas amostras fecais e normalmente apresentam dimensões maiores que os “verdadeiros” parasitas (Zajac & Conboy, 2012).

Não foi possível fazer uma correspondência entre o animal e as fezes com estes elementos uma vez que as amostras foram colhidas em cercados onde se encontravam dois animais (“KaidaxEnebro” e “M’s). Porém, em março, os tratadores conseguiram identificar a amostra do “Mouro” possivelmente através da rotina de defecação desse animal (passou a escolher sempre a mesma latrina).

Figura 39- A: Nematode de vida livre; B: Ovo de ácaro de vida livre (adaptado de Zajac & Conboy, 2012).



**A ausência de resultados positivos nos esfregaços sanguíneos** pode estar relacionada com baixa sensibilidade do método, casos de parasitemia intermitente, número reduzido de parasitas ou fase subaguda de doença (Figueiredo, 2007), para além de podermos considerar que o baixo número de amostras pode ter prejudicado os resultados.

**A ausência de parasitismo nas amostras de pelo** é, possivelmente devido ao baixo número de amostras, à realização de apenas uma técnica e à sensibilidade da mesma. A sensibilidade do tricograma varia entre os 40% e os 85% segundo Lousada, (2015).

Apesar dos resultados negativos no período de estudo, há a registar a presença de dermatófitos no CNRLI (R. Serra, comunicação pessoal, novembro, 6, 2017).

**O 14º fator associa-se ao modo de conservação das amostras.** O tempo mínimo de refrigeração das amostras fecais dos lince foi de um dia e o tempo máximo de 43 dias. Os resultados positivos foram obtidos com 3, 8 e 17 dias de refrigeração para os ovos de ácaro, oocistos de *Eimeria* sp. e nematodes de vida livre, respetivamente. O período mais longo de refrigeração corresponde ao mês de fevereiro e é explicado pelo facto de o laboratório ter estado interdito para uma possível intervenção de urgência (cesariana) na fêmea “Era”.

Nas amostras fecais dos coelhos, o tempo mínimo de refrigeração foi de um dia e o tempo máximo de 40 dias, novamente correspondente ao mês de fevereiro.

Sousa et al (2016), referem que a refrigeração permite interromper o desenvolvimento das formas parasitárias sem as inviabilizar, considerando que pelo menos durante uma semana, as amostras podem ser refrigeradas sem alterações morfológicas consideráveis.

Segundo Bernardino (2017), os oocistos de coccídeos são sensíveis às diferenças de temperaturas e à duração do tempo de conservação.

Nesta dissertação, poderíamos supor algum grau de alteração dos elementos parasitários nas amostras conservadas por períodos superiores a uma semana, o que dificultaria o diagnóstico coprológico.

**A 15ª justificação é a eliminação intermitente dos parasitas gastrointestinais.** Ainda assim, o método de colheita e o grande número de amostras representam o estado da população em estudo.

**Uma 16ª hipótese está relacionada com a desparasitação incorreta ou insuficiente dos lince,** embora tal não se aplique porque não foi detetado parasitismo. O protocolo de desparasitação no lince ibérico não inclui tratamento para coccídeos porque, apesar de já terem sido detetados resultados positivos, os felinos não são hospedeiros de *Eimeria* sp., não revelando qualquer sinal clínico.

Como medida preventiva, estes felinos continuam a ser seguidos para esta parasitose nas coprologias semestrais realizadas nos Centros de cria, pelo que uma alteração no diagnóstico deve ser ponderada em simultâneo com uma alteração no protocolo de desparasitação.

As desparasitações no CNRLI acontecem a seguir às coprologias, normalmente em junho e dezembro (de seis em seis meses). Essas desparasitações são efetuadas nos adultos com milbemicina oxima e praziquantel (Milbemax®, oral) ou pamoato de pirantel associado a praziquantel (Drontal Gatos®, oral). A desparasitação externa é efetuada anualmente com uma pipeta de selamectina (Stronghold®, unção punctiforme).



As crias são desparasitadas aos 30,60 e 90 dias durante os check-ups com milbemicima oxima e praziquantel (Milbemax®, oral) e antes da pré-solta (cerca dos 10 meses de idade) é aplicada uma pipeta de selamectina (Stronghold®, unção punctiforme).

O Drontal Gatos® (pamoato de pirantel e praziquantel) atua em ascarídeos (*T. cati* e *Toxascaris leonina*), em ancilostomatídeos (*A. tubaeforme* e *A. brasilienses*) e em cestodes (*Taenia* spp, *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *Mesocestoides* spp., *Joyeuxiella* spp e *Dipylidium caninum*) (Direção Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2010). Este fármaco foi usado nas desparasitações de dezembro de 2016 no CNRLI obtendo-se coprologias negativas para todos os animais. Em setembro do mesmo ano, as coprologias realizadas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV também revelaram a ausência de parasitismo (L. Carvalho, comunicação pessoal, setembro, 18, 2016).

O Milbemax® oral (milbemicima oxima e praziquantel) atua em cestodes (*Dypilidium caninum*, *Taenia* spp., *Echinococcus multilocularis*) e nematodes (*Toxocara cati* e *Ancylostoma tubaeforme*) (DGAV, 2008).

O Stronghold® (selamectina, unção punctiforme) atua em pulgas (*Ctenocephalides* spp.), piolhos (*Felicola subrostratus*, *Trichodectes canis*), ixodídeos (*I. ricinus*, *I. hexagonus*, *R. sanguineus* e *Dermacentor reticulatus*), ácaros (*Octodectes cynotis*, *Sarcoptes scabiei*) e ainda nemátodes gastrointestinais (*T. cati*, *T. canis*, *A. tubaeforme*) ou dirofilárias (*Dirofilaira immitis*) (European Medicine Agency [EMA], 2015).

Tabela 4- Exemplo de desparasitações das fêmeas no CNRLI (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Miguel Lajas).

Fêmeas				
Lince	Peso (Kg)	Último check-up	Última desparasitação	Desparasitação Dezembro 2016
Artemisa	9,5 (2013)	18-11-2013	09-12-2015 (Drontal)	24-12-2016
Biznaga	12,15 (2016)	22-11-2016	20-06-2016 (Drontal)	30-12-2016
Era	9,00 (2013)	18-11-2013	09-12-2015 (Drontal)	24-12-2016
Flora	11,35 (2016)	21-01-2016	01-06-2016 (Drontal)	23-12-2016 (Drontal)
Fresa	13,3kg (2016)	21-01-2016	01-06-2016 (Drontal)	19-12-2016 (Drontal 3 + ½ comprimido)
Fruta	11,8 (2014)	27-11-2014	05-12-2015 (Drontal)	24-12-2016
Jabaluna	12,25 (2016)	27-11-2014	19-06-2016 (Drontal)	23-12-2016 (Drontal)
Juromenha	12,35 (2016)	27-11-2014	21-06-2016 (Drontal)	20-12-2016 (Drontal 3 comprimidos)
Juncia	10,50 (2016)	16-12-2015	07-11-2012 (Drontal)	24/25-12-2016
Kaida	8,36 (2015)	29-01-2015	18-06-2016 (Drontal)	19-12-2016 (Drontal 2+1/2 comprimido)

Tabela 5- Exemplo de desparasitações dos machos no CNRLI (tabela gentilmente cedida pelo Dr. Miguel Lajas).

Machos				
Lince	Peso (Kg)	Último check-up	Última desparasitação	Desparasitação Dezembro 2016
Calabacin	15,65 (2016)	18-11-2015	20-06-2016 (Drontal)	24-12-2016
Drago	17,85 (2016)	09-12-2015	19-06-2016 (Drontal)	23-12-2016 (Drontal)
Enebro	14,00 (2015)	09-12-2015	19-06-2016 (Drontal)	19-12-2016 (Drontal 3 + 1/2 comprimido)
Fado	15,85 (2015)	02-12-2015	01-06-2016 (Drontal)	19-12-2016 (Drontal 4 comprimidos)
Foco	13,8 (2015)	09-12-2015	19-06-2016 (Drontal)	24-12-2016
Fresco	14,5 (2013)	03-12-2013	19-06-2016 (Drontal)	23-12-2016 (Drontal)
Hermes	12,7 (2016)	18-11-2014	14-11-2016 (Stronghold)	23-12-2016 (Drontal)
Jerte	10,9 (2016)	03-12-2015	21-12-2015 (Drontal)	19-12-2016 (Drontal 2+1/2 comprimido)
K5	13,0 (2016)	22-11-2016	19-06-2016 (Drontal)	23-12-2016 (Drontal)
Madagáscar	12,95 (2016)	11-02-2016	14-11-2016 (Stronghold)	
Mouro	14,2 (2016)		01-06-2016 (Drontal)	24-12-2016
Magreb	16,05 (2016)	30-07-2015	01-06-2016 (Drontal)	24-12-2016
Nabão	8,4kg (2016)		05-2016 (1/2 Milbemax)	24-12-2016

Entre 2008 e 2011, os Centros de *El Acebuche*, *Olivilla* e CNRLI detetaram as seguintes formas parasitárias: *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp., *Strongyloides* spp., *Capillaria* spp, *Isospora* *rivolta*, *Eimeria* spp., *Giardia* spp., *Leishmania* sp., *Toxoplasma gondii*, *Taenia* spp., microfilárias e ainda pseudoparasitas como ovos de ácaro e nemátodes de vida livre (M. Lajas, comunicação pessoal, setembro, 8, 2017).

Os oocistos de *Eimeria* sp. foram observados pelo método de Willis, sedimentação simples e McMaster. Estas observações reforçam os resultados obtidos no presente trabalho, na medida em que os oocistos de *Eimeria* sp. foram observados numa das mesmas técnicas, a sedimentação simples.

Os ovos de ácaro foram detetados na técnica de sedimentação simples e no método de Willis, o que comprova os resultados obtidos no presente trabalho, ao serem detetados na técnica de sedimentação.

Por último, os nematodes de vida livre foram detetados pelo método de Baermann e neste trabalho foram detetados na técnica de sedimentação. Apesar dos elementos terem sido detetados em técnicas diferentes podemos observar que este achado é comum nas amostras fecais de lince ibéricos em cativeiro.

Não se regista a presença de *Cryptosporidium*, o que está de acordo com os resultados obtidos neste estudo.

## 10. Limitações do Estudo

Nos artigos científicos pesquisados observou-se que poucos autores realizaram estudos parasitológicos em lince de cativeiro, recorrendo maioritariamente a estudos em lince selvagens. Talvez, tal facto se deva à probabilidade superior de deteção de formas parasitárias em lince de vida livre do que em lince em cativeiro. Para além disso, o número de estudos que aponta técnicas coprológicas como o método de pesquisa em felinos de cativeiro ainda é reduzido.

É preciso lembrar que o lince ibérico continua a ser uma espécie ameaçada e, como em todas as espécies em extinção, a colheita de amostras torna-se mais difícil. Apesar disto, foi possível a deteção de um género parasitário (*Eimeria*) já anteriormente mencionado em lince ibéricos de cativeiro.

Nos Centros de criação nem sempre é possível entrar diariamente em todos os cercados. Este fator é observado nos cercados das ninhadas destinadas à reintrodução uma vez que o contacto dos tratadores com estas ninhadas é muito restrito. Este motivo explica porque não há análises das ninhadas e das respetivas progenitoras em todos os dias de colheita de fezes. Também durante os meses de cópulas, gestação e partos por razões de bem-estar animal, nem sempre foi possível entrar nos cercados das fêmeas reprodutoras o que impediu a colheita de amostras de algumas fêmeas nesse período.

Outro fator limitante para o seguimento das ninhadas foram as reintroduções porque a partir do mês de janeiro deixa de haver amostras desses animais.

A utilização do laboratório está limitada à ausência de atuações clínicas na instalação.

A colheita de amostras de sangue e pelo esteve dependente da realização dos exames sanitários e da possibilidade de colheita das amostras durante a anestesia.

Por último as trocas de exemplares entre Centros também impediram o seguimento de alguns animais. O “Éon”, o “Jabugo” e a “Junquinha” foram transferidos para o Centro *Zarza de Granadilla* não tendo sido possível o seu seguimento. Em troca, o CNRLI recebeu “Hermes” e “Juncia” do Centro *La Olivilla*, “Madagáscar” de *El Acebuche* e “Jerte” de *Zarza da Granadilla*. As trocas entre os Centros têm como objetivo o reforço da diversidade genética da espécie.

## 11. Conclusão

Em suma, esta dissertação permitiu concluir que a fauna parasitária nos lince do CNRLI bem como da sua principal presa, é limitada, o que comprova a eficácia do protocolo de desparasitação em curso e também das medidas de biossegurança referidas. Estas medidas pretendem manter populações *ex situ* e *in situ* livres de doença, na esperança de aumentar as populações selvagens, sem um dia ser necessário manter exemplares em cativeiro.

Após ponderação sobre todas as hipóteses apresentadas, a justificação mais plausível para os resultados obtidos, é a infeção ligeira dos láparos com possibilidade de transmissão aos lince, sem resultados no diagnóstico coprológico devido ao esquema de colheita de amostras das presas. Os resultados obtidos para os felinos estão de acordo com o esperado na medida em que a análise parasitológica de animais em cativeiro clinicamente controlados dificilmente revelaria uma fauna parasitária abundante. Contudo, as amostras das presas poderiam ter revelado resultados positivos por serem animais jovens com maior predisposição para a doença que passaram por períodos de stress recentes.

Ao trabalhar com animais selvagens temos que ter em conta que a intervenção nestas espécies é mais limitada pelo risco que se impõe no contacto Homem-animal e por desejarmos que os animais mantenham condutas naturais da espécie ao invés de condutas “domesticadas”. Ainda assim, foi novamente comprovado a importância do papel dos médicos veterinários em exemplares a devolver aos ambientes selvagens, ao garantir o controlo de doenças e permitir a recuperação de espécies em vias de extinção.

## **12. Considerações futuras**

O declínio das populações do lince ibérico fez despertar a atenção de diversos especialistas que realizaram trabalhos não só em parasitologia como em outras áreas científicas, contribuindo em muito para o conhecimento de um felino que sobrevive até hoje pela dedicação e trabalho de vários profissionais.

No futuro seria interessante a realização de trabalhos com técnicas de diagnóstico diferentes das mencionadas (como por exemplo método de Baermann e método de McMaster), com um período de estudo mais alargado e com amostras de Centros de Espanha e de campo, de forma a poder comparar resultados entre Centros de Cria e entre populações de cativeiro e populações selvagens. A associação de centrifugação às técnicas aplicadas também seria interessante para facilitar a obtenção de resultados positivos.

Para além das análises coprológicas poderiam ser feitas necropsias orientadas para a pesquisa parasitológica, quer nas presas vivas, quer nos lince que, entretanto, morressem após a sua libertação, para verificar a existência de formas parasitárias adultas justificadas ou não com lesões anatomopatológicas visíveis.

Deverá ainda ser ponderado um maior número de colheita de amostras de sangue e pelo de forma a aumentar as possibilidades de deteção de parasitismo assim como diferentes técnicas de processamento.

O estudo de plantas com características desparasitantes poderia ser interessante com o intuito de considerar a inclusão intencional dessas plantas nos Centros de reprodução em cativeiro. A pesquisa de parasitas nas outras fontes de alimento, na restante fauna a que os lince têm acesso e nos animais que habitam próximo aos Centros de reprodução também seria elucidativo.

Para finalizar, os futuros trabalhos devem adicionar informação à bibliografia já existente para que possamos continuar a desvendar os segredos desta e de outras espécies à beira da extinção.

### 13.Bibliografia

- AAVP (2014). *Joyeuxiella pasqualei*. Acedido em ago. 23, 2017, disponível em: <http://www.aavp.org/wiki/cestodes/cyclophyllidea/dipylidiidae/joyeuxiella-pasqualei/>
- Acosta, L., León-Quinto, T., Bornay-Llinares, F. J., Simón, M. A., & Esteban, J. G. (2011). Helminth parasites in faecal samples from the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary parasitology*, 179(1), 175-179.
- Aguilera, F. J. S. (2010). *Manual práctico de parasitologia veterinária* (69). Unidad de Parasitologia. Dpto. De Sanidad Animal. Faculdade de Veterinária. Universidad de Extremadura.
- Aguirre, A. A., Ostfeld, R. S., Tabor, G. M., House, C., & Pearl, M. C. (Eds.). (2002). Conservation medicine: ecological health in practice. In G. M. Tabor *Defining Conservation Medicine* (pp.8-25). Oxford University Press.
- Alderton, D. (2003). The Feline family. In. D. Alderton, *Wild cats of the world* (pp.147- 158). Facts on File.
- Alho, A. M., Silva, J., Fonseca, M. J., Santos, F., Nunes, C., de Carvalho, L. M., Rodrigues M. & Cardoso, L. (2016). First report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat from Portugal. *Parasites & vectors*, 9(1), 220.
- Berenguer, J. G. (2007). *Manual de parasitología: morfología y biología de los parásitos de interés sanitario* (Vol. 31). Universidad de Barcelona.
- Bernardino, S. M. D. S. (2017). *Estudos sobre parasitismo gastrointestinal e pulmonar em javalis e veados caçados em montarias do centro e sul de Portugal Continental*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Berrueta T. (2016). *Strongyloidosis o strongiloidiosis o strongiloidiasis*. Acedido em ago. 22, 2017, disponível em: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/strongyloidosis.html>
- Bolacha, J. (2015). *O uso de métodos contraceptivos em espécies criticamente ameaçadas: o caso do lince ibérico*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Bowman, D. D. (2014). Diagnostic parasitology. In D.D. Bowman, *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (10<sup>th</sup>). (pp. 326-389) Missouri: Elsevier Inc.
- Bowman, D. D. (2014). Helminths. In D.D. Bowman, *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (10<sup>th</sup>). (pp. 122-227) Missouri: Elsevier Inc.
- Braun B. (2010). *Virkon®*. Acedido em ago, 20, 2017 disponível em: <file:///C:/Users/tmn/Downloads/FOLDER+VIRKON+OUT+2010.pdf>

- Breitenmoser U., Breitenmoser-Würsten C., Lanz T., Von Arx M., Antonevich A., Bao W. & Avgan B. (2015). *The IUCN Red List of Threatened Species: Lynx lynx*. Acedido em jul. 30, 2017, disponível em <http://www.iucnredlist.org/>
- Cabral M.J.(coord.), Almeida J., Almeida P.R., Dellinger T., Ferrando de Almeida N., Oliveira M.E., Palmeirim J.M., Queiroz A.I., Rogado L. & Santos-Reis M. (Eds.) (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*. (pp.16,527,528). Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza.
- Caldas A. (2013). *Portugal Selvagem: O coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus)*. Acedido em ago. 1, 2017, disponível em: <https://portugaselvagem.wordpress.com/category/coelho-bravo/>
- Carvalho L. M. M., Silva A. P., Sousa S. (2016). Exames coprológicos: Considerações para um diagnóstico correto. *Veterinary medicine*. 18-22.
- Carvalho-filho, P. R., de Massad, F. V., Bezerra, M. M., de Oliveira, F. C. R., & Lopes, C. W. G. (2004). *Cystoisospora felis* e *C. rivolta* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em vísceras de gerbis da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) e sua transmissão para gatos livres de coccídias. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 13(4), 169-172.
- Castro A. G. (1990). Luminal events during infection. In J. M. Behnke (Ed.), *Parasites: Immunity and Pathology: The Consequences of Parasitic Infections in Mammals*. (pp.234-239) UK: Taylor e Francis, LDT.
- Castro, L.R.P.P. (1992). *Ecologia e Conservação do Lince ibérico na Serra da Malcata*. Relatório de Estágio para a obtenção de Licenciatura em Recursos Faunísticos e Ambiente. Lisboa: Faculdade de Ciências- Universidade de Lisboa.
- CDC (2016). *Strongyloides*. Acedido em set. 20, 2017, disponível em <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>
- CDC (2016). *Toxoplasmosis*. Acedido em set. 11, 2017, disponível em <https://www.cdc.gov/dpdx/toxoplasmosis/index.html>
- Climate-Data.org (2017). *Clima: Silves*. Acedido a 15 set. 2017, disponível em: <https://pt.climate-data.org/location/6990/>
- Compion, E. (2014). *Blood parasites in cats*. Acedido em set., 27, 2017, disponível em: <http://www.wahg.co.za/en/blood-parasites-cats/>
- Costa, J.A.P. (2009). *Olhares, fotografia online*. Acedido em out. 5, 2017, disponível em: <http://olhares.sapo.pt/floresta-mediterranica-foto2824245.html>
- Costa, M. (2012). *Infeção por Encephalitozoon cuniculi em coelhos-domésticos (Oryctolagus cuniculus) observados na Clínica Veterinária Exotics (Barcelona)*. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
- Courinha, M. M. V. (2016). *Avaliação do tricograma como método de diagnóstico de prurido em gatos com lesões alopécicas*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.



- Crespo C., Gañán, N., Pulido, L., Osuna, G., Gomendio, M., & Roldán, E. R. (2007). *Conservación de tejidos y células de lince ibérico (Lynx pardinus), lince boreal (L. lynx) y lince rojo (L. rufus) para el establecimiento de un banco de recursos genéticos*. Galemys: Boletín SECEM.
- Crespo, A. P.M. A. M. (2012). *Controlo de pragas no jardim zoológico de lisboa – particular relevância para o controlo de roedores e sua infeção parasitária*. Dissertação de mestrado em Segurança Alimentar. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- David, M. S. & Singleton, G.R (2001). Hepatic Capillariasis In W.M. Samuel, M.J. Pybhus, A. A. Kocan (Eds). *Parasitic diseases of wild mammal* (2ªed.). USA: Iowa state University Press.
- Delibes-Mateos M., Delibes M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008). Key role of European rabbits in the conservation of the Western Mediterranean basin hotspot. *Conservation Biology*, 22(5), 1106-1117.
- Deniz, A. (2009). Coccidiose ovina: revisão bibliográfica. *Albeitar* (3), 4-18.
- DGAV (2008). *Milbemax comprimidos para gatos pequenos e gatinhos*. Acedido em set. 20, 2017, disponível em: <http://www.apifarma.pt/sites/simpvetgest%5CLists/MedicamentosProd/Milbemax%20comprimidos%20para%20gatos%20pequenos%20e%20gatinhos.pdf>
- DGAV (2010). *Drontal comprimidos para gatos*. Acedido em set. 15, 2017 disponível em: <http://www.apifarma.pt/sites/simpvetgest%5CLists/MedicamentosProd/DRONTAL%20comprimidos.pdf>
- Díaz-Regañón, D., Villaescusa, A., Ayllón, T., Rodríguez-Franco, F., Baneth, G., Calleja-Bueno, L., Garcia- Sancho M., Agulha B. & Sainz, Á. (2017). Molecular detection of Hepatozoon spp. and Cytauxzoon sp. in domestic and stray cats from Madrid, Spain. *Parasites & vectors*, 10 (1), 112.
- Dryden, M. W., & Payne, P. A. (2005). Preventing parasites in cats. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine*. 6(3), 260-267.
- Dryden, M. W., Payne, P. A., Ridley, R. K., & Smith, V. E. (2006). Gastrointestinal parasites: the practice guide to accurate diagnosis and treatment. *Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 28 (8), 3-15.
- EMA (2015). *Stronghold*. Acedido em set. 15, 2017, disponível em: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/000050/WC500068666.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/veterinary/000050/WC500068666.pdf)
- Emerson, K. C., & Price, R. D. (1981). Host-parasite list of the Mallophaga on mammals. *Miscellaneous publications of the Entomological Society of America*. 12 (1), pp.2-3.

- European Commission (2017). *Environmental: LIFE Programme*. Acedido em jul. 6, 2017, disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.getProjectList&themeID=108&projectList>
- Fernández-Aguilar, X., Alzaga, V., Villanúa, D., Cabezón, O., García-Bocanegra, I., Dubey, J. P., & Almería, S. (2013). Epidemiology and prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in the Iberian hare (*Lepus granatensis*). *Veterinary parasitology*, 196(1), 194-198.
- Ferreira, C. M. A. D. C. (2003). *Avaliação da eficácia da gestão do habitat em populações de Coelho-bravo (Oryctolagus cuniculus algirus) no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina*. Dissertação de mestrado em Ecologia aplicada. Porto: Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Figueiredo, T. C. D. (2007). *Estudo da prevalência de doenças associadas a vetores em canídeos domésticos do distrito de Bragança*. Dissertação de mestrado em Medicina. Lisboa: Faculdade de Medicina de Lisboa- Universidade de Lisboa
- Figueiredo, A., Oliveira, L., de Carvalho, L. M., Fonseca, C., & Torres, R. T. (2016). Parasite species of the endangered Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) and a sympatric widespread carnivore. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(2), 164-167.
- Fonseca, H. S. (2008). *Diagnóstico Clínico-Laboratorial das parasitoses*. Acedido em set. 15, 2017, disponível em: <http://slideplayer.com.br/slide/5621149/>
- GAASLI (2004). *Manual Clínico del Lince Ibérico*. Acedido em ago. 18, 2017, disponível em: <http://www.lynxexsitu.es/seccion.php?secc=DOCUMENTOS&id=41>
- García-Bocanegra, I., Dubey, J. P., Martínez, F., Vargas, A., Cabezón, O., Zorrilla, I., Arenas A. & Almería, S. (2010). Factors affecting seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Veterinary parasitology*, 167(1), 36-42.
- Garrido, J. (2012). *Contribuição para o estudo da prevalência da infeção por Leishmania infantum em gatos domésticos e errantes nos distritos de Lisboa e Viseu*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Garrote, G., López, G., Gil-Sánchez, J. M., Rojas, E., Ruiz, M., Bueno, J. F., Lillo S., Rodriguez-Siles J., Martín J.M., Pérez J., Garcia-Tardio M., Valenzuela G. & Simón M.A. (2013). Human–felid conflict as a further handicap to the conservation of the critically endangered Iberian lynx. *European journal of wildlife research*, 59(2), 287-290.
- Gastal, M. L. & Saragoussi M. (2008). *Os instrumentos para a conservação da biodiversidade* (pp.43-62) Bensusan, Nurit.

- Geraldes, H. (2016). Lince Ibérico é uma das espécies com menor diversidade genética do mundo. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em jul. 9, 2017, disponível em: <http://www.wilder.pt/historias/lince-iberico-e-uma-das-especies-com-menor-diversidade-genetica-do-mundo/>
- Geraldes, H. (2016). Nasceu o primeiro lince ibérico em liberdade em Portugal. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em ago. 14, 2017, disponível em <http://www.wilder.pt/historias/nasceu-o-primeiro-lince-iberico-em-liberdade-em-portugal/>
- Geraldes, H. (2016). População mundial de Lince ibérico sobe para os 404 animais. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em ago. 11, 2017, disponível em <http://www.wilder.pt/historias/populacao-mundial-de-lince-iberico-sobe-para-os-404-animais/>
- Geraldes, H. (2017). Conservação do Lince Ibérico na Andaluzia vence Green Awards da Comissão Europeia. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em jul. 6, 2017, disponível em: <http://www.wilder.pt/historias/conservacao-do-lince-iberico-na-andaluzia-vence-green-awards-da-comissao-europeia/>
- Geraldes, H. (2017). Já há crias do lince ibérico que veio de Espanha para ficar com fêmea de Serpa. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em jul. 30, 2017, disponível em <http://www.wilder.pt/historias/ja-ha-crias-do-lince-iberico-que-veio-de-espanha-para-ficar-com-femea-de-serpa/>
- Geraldes, H. (2017). Silves conseguiu 13 das 37 crias de Lince ibérico de 2017. *Wilder, Rewildings your days*. Acedido em ago. 11, 2017 disponível em: <http://www.wilder.pt/historias/silves-conseguiu-13-das-37-crias-de-lince-iberico-de-2017/>
- GMSLI (2014). *Manual sanitario del lince ibérico* (versão 2.1). Acedido em ago 15, 2017, disponível em: [https://www.lynxexsitu.es/ficheros/documentos\\_pdf/85/Manual\\_Sanitario\\_Lince\\_Ib\\_2014.pdf](https://www.lynxexsitu.es/ficheros/documentos_pdf/85/Manual_Sanitario_Lince_Ib_2014.pdf)
- Gracenea, M., & Gállego, L. (2017). Brachylaimiasis: brachylaima spp. (digenea: brachylaimidae) metacercariae parasitizing the edible snail cornu aspersum (helicidae) in spanish public marketplaces and health associated risk factors. *Journal of Parasitology*, 103(5), 440-450
- Grupo de Manejo en Cautividad del Lince Ibérico (2015). *Manual de Manejo en cautividad del lince ibérico*. (www.lynxexsitu.es)
- Guaguère, E. (2006). Dermatoses parasitaires. In E. Guaguère & P. Prélaud, *Guide pratique de dermatologie féline* (pp. 48-61). France: Merial.
- Guerra, D., Armua-Fernandez, M. T., Silva, M., Bravo, I., Santos, N., Deplazes, P., & de Carvalho, L. M. M. (2013). Taeniid species of the Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) in Portugal with special focus on *Echinococcus* spp. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 50-53.
- Gunn, A. & Pitt, S. J. (2012). *Parasitology: an integrated approach*. West Sussex: John Wiley & Sons.
- Hidalgo Arguello, M. R., & Cordero del Campillo, M. (1996). Coccidiosis: biological cycle and epidemiology. *Ovis* (Espana).

- Hoffman, W. A., Pons, J. A., & Janer, J. L. (1934). *The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni*. School of Tropieul Medicino of the University of Puerto Rico-University of Colombia.
- Iberlince (2017) *Reintroduções: Seleção de áreas de reintrodução*. Acedido em jul. 12, 2017, disponível em: <http://www.iberlince.eu/index.php/port/projecto/reintroducao#.WWaXy4jyvIU>
- Iberlince (2017). *Ecologia: introdução à espécie*. Acedido em jul. 13, 2017, disponível em <http://www.iberlince.eu/index.php/port/lince-iberico#.WbVWcsiGPIU>
- ICNF (2014). *Reintrodução do lince ibérico em Portugal*. Acedido em jul. 20, 2017, disponível em: <http://www.icnf.pt/porta/lnf/noticias/resource/lince-iberico/doc/Lince-nota.pdf>
- ICNF (2017). *Estatuto de Conservação*. Acedido em jul. 20, 2017, disponível em: <http://areasprotegidas.icnf.pt/lince/index.php/lince-iberico/caracteriza-especie/estatuto-conservacao>
- ICNF (2017). *O Lince: Reintrodução no Vale do Guadiana*. Acedido em jul. 12, 2017, disponível em: <http://areasprotegidas.icnf.pt/lince/index.php/lince-iberico/reintroducao/item/211-reintroducao-lince-mertola>
- IUCN (1998). *Guidelines for Re-introduction*. (pp 10). Gland, Switzerland, Cambridge, UK: IUCN.
- IUCN (2012). *IUCN red list categories and criteria*. (2ªed.). Gland, Switzerland, Cambridge, UK: IUCN.
- IUCN (2017). *Overview of The IUCN Red List*. Acedido em jul. 3, 2017, disponível em: <http://www.iucnredlist.org>
- Jones, A. & Pybus, M.J. (2001). Taeniasis and Echinococcosis. In W.M. Samuel, M.J. Pybhus, A. A. Kocan (Eds). *Parasitic diseases of wild mammal* (2ªedição). USA: Iowa state. University Press
- Jones, A. (1983). A revision of the cestode genus Joyeuxiella Fuhrmann, 1935 (Dilepididae: Dipylidiinae). *Systematic Parasitology*, 5(3), 203-213.
- Jorge R. (2013). *Programa Nacional de Avaliação externa de qualidade: morfologia parasitária*. Acedido em set. 25, 2017, disponível em: [http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/ApoioTecnico/PNAEQ/Documents/CartaAMP\\_1\\_2013.pdf](http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/ApoioTecnico/PNAEQ/Documents/CartaAMP_1_2013.pdf)
- Kelly M., Morin, D. & Lopez-Gonzalez, C.A. (2016). *The IUCN Red List of Threatened Species- Lynx rufus*. Acedido em jul. 4, 2017, disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/12521/0>
- Kewish, K. E., Appleyard, G. D., Myers, S. L., Kidney, B. A., & Jackson, M. L. (2004). Mycoplasma haemofelis and Mycoplasma haemominutum detection by polymerase chain reaction in cats from Saskatchewan and Alberta. *The Canadian Veterinary Journal*, 45(9), 749.
- Kozina, P., Gólc, A., & Izdebska, J. N. (2014). New data on the prevalence of Trichodectes melis (Phthiraptera, Trichodectidae) on the European badger Meles meles (Carnivora, Mustelidae). *Annals of parasitology*, 60(4).

- Kumar, M., Shekhar, P., Haque, S., & Mahto, D. (2008). Feline babesiosis. *Veterinary World*, 1(4), 120-121.
- Lazarchick, J. & Ginell P. (2008). *Erlichiosis-2*. Acedido em out. 3, 2017, disponível em: <https://imagebank.hematology.org/image/3615/ehrlichiosis--2?type=upload>
- Leclaire, S., & Faulkner, C. T. (2014). Gastrointestinal parasites in relation to host traits and group factors in wild meerkats *Suricata suricatta*. *Parasitology*, 141(7), 925-933.
- Lennox, A. M., & Kelleher, S. (2009). Bacterial and parasitic diseases of rabbits. *Veterinary clinics of North America: exotic animal practice*, 12(3), 519-530.
- Literák, I., Tenora, F., Letkova, V., Goldova, M., Torres, J., & Olson, P. D. (2006). *Mesocostoides litteratus* (Batsch, 1786) (Cestoda: Cyclophyllidae: Mesocostoididae) from the red fox: morphological and 18S rDNA characterization of European isolates. *Helminthologia*, 43(4), 191.
- Little S. (2014). Vector-borne diseases. In D. D. Bowman, *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (10<sup>th</sup>) (pp.241-258). Missouri: Elsevier Inc.
- Lopes, A. A. V. (2012). *Estudo da dieta do coelho-bravo e lebre-ibérica em Trás-os-Montes: Influência da alimentação na estratégia reprodutora*. Dissertação de mestrado em Gestão de Recursos Florestais. Bragança: Escola Superior Agrária.
- Lopes, C. M. P. (2013). *Estudo dos parasitas gastrointestinais do sacarrabos (Herpestes ichneumon) e outros carnívoros silvestres coabitantes, com relevância em Portugal*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Lopes-Fernandes, M., & Frazão-Moreira, A. (2017). Relating to the wild: Key actors' values and concerns about lynx reintroduction. *Land Use Policy*, 66, 278-287.
- López-Bao, J. V., Rodríguez, A. & Palomares, F. (2008). Behavioural response of a trophic specialist, the Iberian lynx, to supplementary food: patterns of food use and implications for conservation. *Biological Conservation*, 141(7), 1857-1867.
- Loureiro F., Martins A.R., Mouro C. & Santos E. (2010). *Relatório Não técnico do Projeto LIFE Lince Moura/Barrancos (LIFE06 NAT/P/000191): recuperação do Habitat do Lince ibérico no sítio Moura/Barrancos/*. Acedido em ago. 16, 2017, disponível em: [http://projectos.lpn.pt/documentos/outros/file\\_219.pdf](http://projectos.lpn.pt/documentos/outros/file_219.pdf)
- Lousada, R. M. S. (2015). *Estudo de uma nova técnica atraumática para o diagnóstico de Demodex canis e sua comparação com técnicas já utilizadas*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Loveridge, A. J. & Macdonald D. W. (Eds.). (2010). *Dramatis personae: an introduction to the wild felids*. In D. Macdonald, A. Loveridge & K. Nowell. *The biology and conservation of wild felids* (Vol. 2). Oxford: University Press.
- Loveridge, A. J. & Macdonald D. W. (Eds.). (2010). *Felids ex situ: managed programmes, research, and species recovery*. In D. Wildt, W. Swanson, J. Brown, A. Sliwa & A. Vargas, *The biology and conservation of wild felids* (Vol. 2). Oxford: University Press.

- Loveridge, A. J. & Macdonald D. W. (Eds.). (2010). Wild felid diseases: conservation implications and management strategies. In L. Munson, K. A. Terio, M. P. R. Degiorgis, E. P. Lane & Franck Courchamp, *The biology and conservation of wild felids* (Vol. 2). Oxford: University Press.
- Luque-Martínez, S. (2014). *Caracterización de ooquistes de Eimeria (apicomplexa) presentes en las heces de conejo (Oryctolagus cuniculus)*. Facultad de Ciencias Experimentales- Universidad de Jaén
- Lynxessitu (2010). *Iberian Lynx Fecal Collection Protocol*. Acedido em ago. 13, 2017, disponível em <http://www.lynxessitu.es/seccion.php?secc=DOCUMENTOS&id=26>
- Lynxessitu (2017). *Aspetos de saúde*. Acedido em jul. 31, 2017, disponível em: <https://www.lynxessitu.es/programa-por.php?sec=sanitario>
- Lynxessitu (2017). *Centros de Criação*. Acedido em jul. 21, 2017, disponível em: <https://www.lynxessitu.es/programa-por.php?sec=centro>
- Lynxessitu (2017). *Ex Situ programa*. Acedido em jul. 15, 2017, disponível em <http://www.lynxessitu.es/programa-por.php>
- Madeira de Carvalho, L. M. (2008). Os equídeos em Portugal: de animais de produção a animais de companhia. II–Implicações no Controlo das Parasitoses Gastrintestinais. *Medicina Veterinária*, 4-20.
- Madeira de Carvalho, L. M., Pereira da Fonseca, L. M., Gomes, L., & Meireles, J. M. (2009). *Lungworms in domestic and wild carnivores in Portugal: rare parasites or rarely diagnosed*. In Proceedings of the Bayer Angiostrongylosis Forum: 19th Annual Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine- Companion Animals, 9 September 2009, Porto, Portugal.
- Madeira de Carvalho, L.M, Pereira da Fonseca, I.M. & Carvalho-Varela, M. (1994). *Parasitas de mamíferos silvestres da Reserva Natural da Serra Malcata*. 2ª reunião anual da Sociedade Portuguesa de Parasitologia, Instituto de Zoologia Dr. Augusto Nobre, Faculdade de Ciências do Porto, 19 e 20 de setembro de 1994. (poster).
- Mas-Coma, S., & Montoliu, I. (1986). The life cycle of *Brachylaima ruminiae* sp. (Trematoda: Brachylaimidae), a parasite of rodents. *Parasitology Research*, 72(6), 739-753.
- Microptic (2017). *Diff-Quik® Rapid Staining*. Acedido em set. 15, 2017, disponível em: <https://www.micropticsl.com/products/disposables/morphology/diff-quik/>
- Millán J. & Delibes M. (2006). *Estudio sanitario del linco ibérico y especies asociadas*. Estação Biológica de Donãna- Seville.
- Millán, J., Ruiz- Fons, F., Márquez, F. J., Viota, M., López- Bao, J. V., & paz Martín- Mateo, M. (2007). Ectoparasites of the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*) and sympatric wild and domestic carnivores in Spain. *Medical and veterinary entomology*, 21(3), 248-254.



- Monteiro, J. M. A. (2010). *Coccidiose (Eimeria spp).* Associação Portuguesa de Cunicultura. Acedido em set. 16, 2017, disponível em: <http://www.aspoc.pt/attachments/article/147/Apresenta%C3%A7%C3%A3o%20Jose%20Manuel%202%C2%AA%20jornadas%2012.11.2010.pdf>
- Nabais, J. N. P. (2012). *Infeção por Aelurostrongylus abstrusus e Angiostrongylus vasorum (Nematoda: Angiostrongylidae) em gatos e cães no distrito de Lisboa, Portugal.* Dissertação de mestrado integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Técnica de Lisboa.
- Neca, P. (2000) Técnicos do Instituto de Conservação da Natureza revelam situação crítica do Lince à beira da extinção. *O Público*.
- Nowell, K., & Jackson P. (Eds.). (1996). *Wild cats: status survey and conservation action plan.* (pp. 101-144). (Vol. 382). Gland: IUCN.
- Oliveira, A. C., António N. S, Neves M. F. (2009). Physaloptera praeputialis. *Revista científica eletrónica de Medicina Veterinária*, 12.
- Pais, R. M. M. (2013). *Tricograma como método de estudo de Alopecia em felinos.* Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Palomares, F. (2009). Biology and current status: Iberian lynx ecology and life history. In A. Vargas, C. Breitenmoser, U. Breitenmoser (Eds) *Iberian Lynx Ex situ Conservation: An interdisciplinary approach.* (pp.2-4). Madrid: Fundación Biodiversidad.
- Palomino, I., Edith M., Vázquez G., César J., Valencia G., Javier H. (2012). Programa de medicina preventiva en felinos para el parque zoológico “Benito Juárez”: resultados preliminares. *REDVET - Revista eletrónica de Veterinária*, 13 (06B), 1-10.
- Patton, N. M., Hagen, K. W., Gorham, J. R., & Flatt, R. E. (2008). *Domestic rabbits: diseases and parasites.* Oregon State University Extension Service; Washington State University Cooperative Extension Service; University of Idaho Cooperative Extension Service. US Dept. of Agriculture.
- Peleteiro, M.C., Pinho M. e Orvalho J.S. (2001). Acedido em set. 28, 2017, disponível em: [http://www.fmv.ulisboa.pt/atlas/figado/paginas\\_pt/figad\\_050.html](http://www.fmv.ulisboa.pt/atlas/figado/paginas_pt/figad_050.html)
- Pereira, A.M. (2006). Principais Doenças dos Coelho. In A. Andrade, S.C. Pinto & R.S. Oliveira, *Animais de laboratório: criação e experimentação.* Rio de Janeiro: Fiocruz. Pérez, J. M., Sánchez, I., & Palma, R. L. (2013). The dilemma of conserving parasites: the case of Felicola (Loricicola) isidoro (Phthiraptera: Trichodectidae) and its host, the endangered Iberian Lynx (Lynx pardinus). *Insect Conservation and Diversity*, 6(6), 680-686.

- Pérez, R. F. (2012) *Lincepedia: Lince canadense*. Acedido em set. 7, 2017, disponível em <http://www.lincepedia.com/lince-canadiense/>
- Pérez, R. F. (2012) *Lincepedia: Lince euroasiático*. Acedido em set. 10, 2017, disponível em <http://www.lincepedia.com/lince-euroasiatico/>
- Pérez, R. F. (2012) *Lincepedia: Lince vermelho*. Acedido em set. 10, 2017, disponível em <http://www.lincepedia.com/lince-rojo/>
- Rani, P. A. M. A., Coleman, G. T., Irwin, P. J., & Traub, R. J. (2011). Hippobosca longipennis-a potential intermediate host of a species of Acanthocheilonema in dogs in northern India. *Parasites & vectors*, 4(1), 143.
- Rocamora, P. J. (2009). Foreword. In A. Vargas, C. Breitenmoser, U. Breitenmoser., (Eds) *Iberian Lynx Ex situ Conservation: An interdisciplinary approach* (pp.XI,XII). Madrid: Fundación Biodiversidad.
- Rocha, P. & Sarmiento P. (2015). *Conservação in situ do Lince Ibérico em Portugal*. Acedido em ago. 15, 2017, disponível em: <http://www.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/resource/1-encontro-cnf-2015/10-LINCE-IBERICO.pdf>
- Rodríguez, A. & Calzada, J. (2015). *The IUCN Red List of Threatened Species- Lynx pardinus*. Acedido em jul. 17, 2017, disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/12520/0>
- Rodriguez, A. & Carbonell, E. (1998). Gastrointestinal parasites of the Iberian lynx and other wild carnivores from central Spain. *Acta Parasitologica*, 43, 128-136.
- Roy, P. & Upadhyay, R. K. (2015), Conserving Iberian Lynx in Europe: Issues and challenges. *Ecological complexity*, 22, pp 16-31.
- Rubens A. M., Margarete S. M. G., Flávio H. F. B., Ricardo L. D. M., Rosemary F. A., Álvaro A. R. A. C. (2013). Sensibilidade de métodos parasitológicos para o diagnóstico das enteroparasitoses em Macapá – Amapá, Brasil. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 13 (2), 66-73.
- Sahinduran, S. (2012). Protozoan diseases in farm ruminants. *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*. InTech.
- Santos, I. T. D. (2016). *Conservação ex situ do lince ibérico (Lynx pardinus): determinação de valores de referência para análises sanguíneas e análise da morfometria da população do Centro Nacional de Reprodução do Lince Ibérico*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa.
- Sarmiento P., Carrapato C., Eira C. & Silva, J. P. (2017). Spatial organization and social relations in a reintroduced population of Endangered Iberian lynx, *Lynx pardinus*. *Oryx*, 1-12.
- Sergeant, ESG, 2017. *Epitools epidemiological calculators*. Acedido em out. 20, disponível em <http://epitools.ausvet.com.au>.
- Serrano, J. (2015). *Coccidiosis en bovinos*. Acedido em out. 22, 2017, disponível em: <http://jairoserano.com/2015/02/coccidiosis-en-bovinos/>
- Shapiro L. S. (2010). Endoparasites of large animals. In L.S. Shapiro, *Pathology and Parasitology for Veterinary Technicians*. (2nd ed.). Delmar, Cengage Learning.



- Shapiro L. S. (2010). Endoparasites of small animals. In L.S. Shapiro, *Pathology and Parasitology for Veterinary Technicians*. (2nd ed.). Delmar, Cengage Learning.
- Silva J. (2014). *Dois lincos ibéricos já moram em Mértola*. Acedido em out. 15, 2017, disponível em: <https://www.publico.pt/2014/12/16/sociedade/noticia/dois-lincos-ibericos-ja-moram-em-mertola-1679637>
- Silva, P. H. D. S. C. (2012). *Prevalência de Parasitas Gastrointestinais na População de Animais do Zoo da Maia*. Relatório de final de estágio. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar-Universidade do Porto.
- Simón, M. A., Gil- Sánchez, J. M., Ruiz, G., Garrote, G., McCain, E. B., Fernández, L. López-Parra M., Rojas E., Arenas-Rojas R., Rey T, García- Tardío, M. & López G. (2012a). Reverse of the decline of the endangered Iberian lynx. *Conservation Biology*, 26(4), 731-736.
- Simón, M. M. (Ed.), Rojas R. A., Díaz J.A.B., Segura J.F.B., Llano R. C., García S. L., Wamba M.T.R., Segovia M. P. D., Peña L.F., Tena J.A.F., Bartolomé R. G., Santiago J. G., Tardío M.I.G., Alonso G.G., Sánchez J.M.G., Infante A.M.G., Blanco A.L., Parra M.L., Zamora G.L., Serrano T.L., Sánchez J.M.M., Cano R.B.M., Castro M.M., Domínguez D.P., Marín J.P., Siles A.J.R., Hidalgo E.M.R., Jiménez G.R., Vergara M.R., Muñoz J.M.S., Arce S.S., Piñeiro R.S., Díaz B.T. & Serrano G.V. (2012b). *Ten years conserving the Iberian lynx*. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Seville.
- Smith, A.T. & Boyer, A.F. (2008). *IUCN Red List of Threatened Species- Oryctolagus cuniculus*. Acedido em ago. 20, 2017, disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/full/41291/0>
- Snak, A., Agostini, K. M., Lenzi, P. F., Montanucci, C. R., Delgado, L. E., & Zabott, M. V. (2017). Perfil parasitológico de mamíferos silvestres cativos. *Veterinária e Zootecnia*, 24(1), 193-200.
- Sousa, S. E. R. D. (2016). *Parasitismo gastrointestinal em asininos da raça de Miranda: epidemiologia e controlo seletivo da infeção por strongilídeos*. Dissertação de doutoramento em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade de Lisboa.
- Tarigo, J. L., Scholl, E. H., Bird, D. M., Brown, C. C., Cohn, L. A., Dean, G. A., & Felgner, P. L., Vigil & A., Birkenheuer A.J. (2013). A novel candidate vaccine for cytauxzoonosis inferred from comparative apicomplexan genomics. *PloS one*, 8(8), e71233.
- Teives, M. J. N. D. V. (2015). *Deteção da infeção por Babesia spp., Hepatozoon spp., Leishmania spp., Ehrlichia spp. e Dirofilaria immitis em gatos (Felis catus domesticus) por técnicas parasitológicas diretas e serológicas no conelho de Alcochete*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade de Lisboa.
- Thienpont, D., Rochette, F., & Vanparijs, O. F. J. (1986). *Diagnosing helminthiasis by coprological examination*. (Ed. 2). Belgium: Janssen Research Foundation.

- Torres, J., Garcia-Perea, R., Gisbert, J., & Feliu, C. (1998). Helminth fauna of the Iberian Lynx, *Lynx pardinus*. *Journal of helminthology*, 72(3), 221-226.
- Valente, J. M. (2009). *Medicina de Animais Exóticos–Encefalitozoonose em Coelho (Oryctolagus cuniculus)*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Vila Real-Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Vargas A., Martínez F., Bergara J., Klink L., Rodriguez J., Rodríguez D., & Rivas A. (2005). Rutina de trabajo. In Astrid V. et al., *Manual de manejo em cautividad: Programa de funcionamiento del Centro de cria El Acebuche. Parque Nacional de Doñana* (pp.30-33).
- Vargas, A., Breitenmoser C., Breitenmoser U. (Eds.). (2009). Integrating health issues into conservation of the Iberian Lynx (*Lynx pardinus*). In F. Martínez, G. López, J. Pastor, I. Zorrilla, Á. Muñoz, I. García, L. Peña, M.A. Jiménez, M. J. Pérez, I. Molina, J. M. Aguilar, M. Á. Quevedo, M. L. Meli, H. Lutz & A. Vargas. *Iberian Lynx ex situ conservation: an interdisciplinary approach* (pp. 169-177). Madrid: Fundación Biodiversidad.
- Vashon J. (2016). *The IUCN Red List of Threatened Species- Lynx canadensis*. Acedido em jul. 4, 2017, disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/12518/0>
- Vetset: hospital veterinário (2014). *Encefalitozoonose em coelhos*. Acedido em out. 18, 2017, disponível em: [http://www.vetsete.com/admin/banners/201407181237-encefalitozoonose\\_em\\_coelhos.pdf](http://www.vetsete.com/admin/banners/201407181237-encefalitozoonose_em_coelhos.pdf)
- Vicente, J., Palomares, F., de Ibañez, A. R., & Ortiz, J. (2004). Epidemiology of *Ancylostoma* spp. in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*) in the Doñana National Park, south-west Spain. *Journal of helminthology*, 78(2), 179-183.
- Villiers, E. & Blackwood, L. (Eds.) (2010). Disorders of erythrocytes. In E. Villiers, *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. (nº2) (pp.33-58). British Small Animal Veterinary Association.
- Villiers, E. & Blackwood, L. (Eds.) (2010). Introduction to haematology. In E. Villiers, *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. (nº2). (pp.23-33). British Small Animal Veterinary Association.
- Willi, B., Filoni, C., Catão-Dias, J. L., Cattori, V., Meli, M. L., Vargas, A. Martínez F., Roelke M.E., Leutenegger C.M., Ryser-Degiorgis M., Leutenegger C.M., Lutz H. & Hofmann-Lehmann R. (2007). Worldwide occurrence of feline hemoplasma infections in wild felid species. *Journal of clinical microbiology*, 45(4), 1159-1166.
- Willis, H. H. (1921). A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Medical Journal of Australia*, 2 (18)

- Wong, P. L., Watson, T., & Anderson, R. C. (1980). *Vigisospirura potekhina* (Petrow and Potekhina, 1953) (Nematoda: Spiruroidea) from the bobcat, *Lynx rufus* (Schreber), in the Southeastern USA. *Canadian Journal of Zoology*, 58(9), 1612-1616.
- WWF (2017). *Floresta Mediterrânica*. Acedido em out. 1, 2017, disponível em: [http://www.wwf.pt/o\\_nosso\\_planeta/florestas/floresta\\_mediterranica/](http://www.wwf.pt/o_nosso_planeta/florestas/floresta_mediterranica/)
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary clinical parasitology*. (8ªed.). UK: John Wiley & Sons.

## 14. Anexos

**Anexo 1-**Descrição do produto na cozinha (informação gentilmente cedida pela administrativa Lara Ferreira).

Cozinha	Descrição do produto		Edição: 19/07/2010 Revisão: Data: 19/07/2010
Produto:			Data:
Nome:			
Características gerais:			
Características	Valores médios / valores máximos permitidos		Unidades
Ph			
Matéria Gorda			
Humidade no produto isento MG			
Contagem total 30°C			
Coliformes			
<i>E. coli</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Listeria monocytogenes</i>			
Etiquetagem:	Código		
	Tempo em stock		
	Utilização		
Condições de armazenamento:			
Condições de distribuição:			
Acondicionamento / embalagem:			
Observações:			
<p><u>Nota:</u> anexar a cada descrição de produto (quando necessário), o respectivo relatório emitido pela entidade que realizou as análises.</p>			

**Anexo 2-** Registo de higienização da cozinha (informação gentilmente fornecida pela administrativa Lara Ferreira).

Cozinha	Controlo e Registo de Higienização (limpeza + desinfecção)								Edição: 19/07/2010 Revisão: Data: 07/09/2010  Rubrica	
	Instalações									
	Secção:	Cozinha		Mês:	Fevereiro		Ano:	2017		Hora
	Frequência Limpeza	D	D	D	Sm	D	D	Se		
Frequência higienização	Sm	Sm	Sm	Sm	Sm	Sm	Se	Du		
Data	Pavimentos	Ralos	Paredes	Janelas	Portas	Prateleiras	Ventilação	Bancadas		
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										

Legenda:

D- Diária

L- Limpeza

Se- semestral

H- Higienização

Sm. Semanal

Du- depois do uso

**Anexo 3-** Controlo da temperatura de refrigeração nos frigoríficos da cozinha (informação gentilmente fornecida pela administrativa Lara Ferreira).

Cozinha	Controlo e Registo de Temperatura de Refrigeração						Edição: 19/07/2010
	Frigoríficos						Revisão: 01/07/2011
							Data: 01/07/2011
Secção:		Cozinha	Mês:	Fevereiro	Ano:	2017	Rubrica
Frequência	Manhã/Tarde	Equipamento 1 °C		Equipamento 2 °C		Hora	
Data							
1	Manhã						
	Tarde						
2	Manhã						
	Tarde						
3	Manhã						
	Tarde						
4	Manhã						
	Tarde						

**Legenda:**

**Equipamento:** 1 - Frigorífico grande 2 - Frigorífico pequeno

Escala temperaturas referência:



**Anexo 4-** Registo do controlo da água dos cercados no ano de 2011 (informação gentilmente fornecida pela administrativa Lara Ferreira).

Cercados	Registo de controlo de água														Edição: 19/07/2010
															Revisão:
															Data: 19/07/ 2010
Análises laboratoriais realizadas	Freq.	2011													
		Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Obs.	
Água	1 / ano														
	Data Colheita														
	Resulta do														
	(C / NC)														
	RNC														
Notas: os parâmetros ensaiados cumprem na integra os valores paramétricos definidos pelo Decreto-Lei nº 306/2007. Água bacteriologicamente e quimicamente potável para consumo humano. Os resultados obtidos encontram-se no boletim de análise nº 4872 (anexo a este registo).															

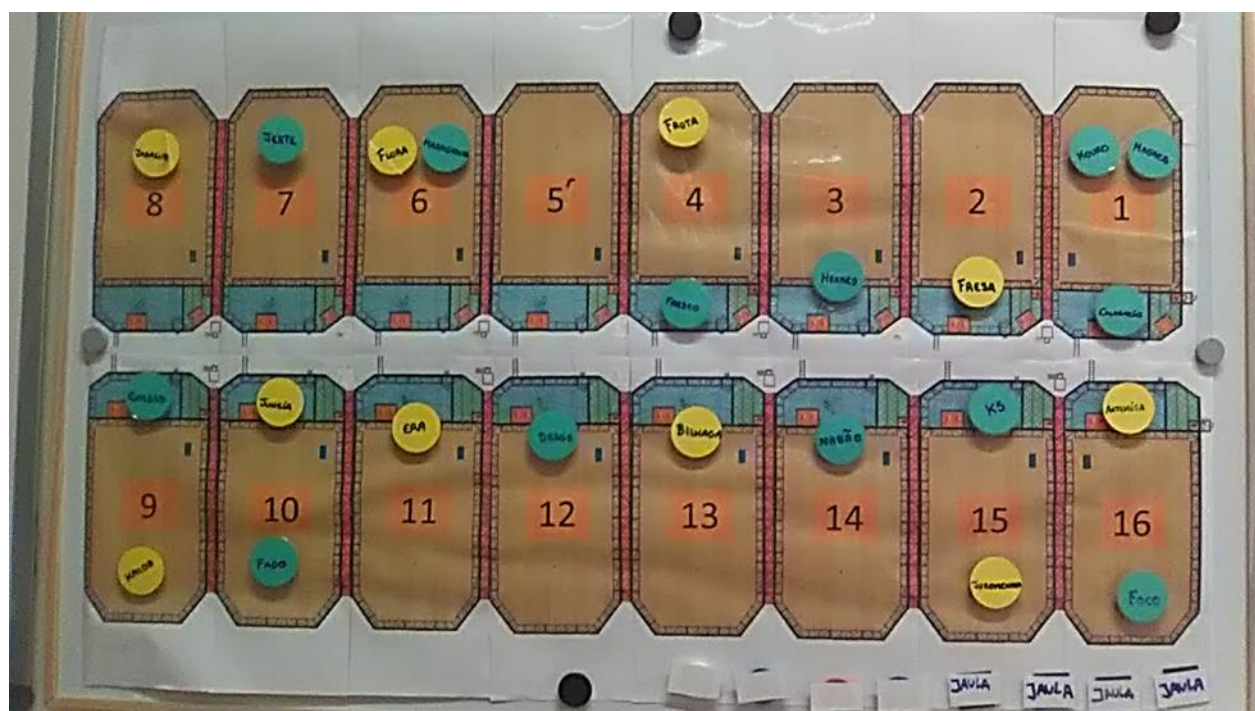
Legenda:

C- Conforme

NC- Não Conforme

RNC- Registo Não Conformidade e Ações Corretivas

**Anexo 5-** Esquema dos cercados do CNRLI (foto original).





**Anexo 6-** Registos das coprologias dos lince, mês de janeiro, 2017.

Animal	Data da Colheita	Análise técnica	Aspetto MA	Flutuação	Sedimentação
Artemisa	13-01	23-01	Normais	Negativo	Negativo
Biznaga	13-01	23-01	Normais	Negativo	Negativo
N2 Artemisa (Nabão)	13-01	20-01	Normais	Negativo	Negativo
Calabacin	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
Enebro x Kaida	13-01	21-01	Normais	Negativo	<b>Ovo de ácaro</b>
Era x Fado	13-01	21-01	Normais	Negativo	<b>Oocisto <i>Eimeria</i> sp.</b>
Madagáscar x Flora	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
Mouro e Magreb	13-01	20-01	Normais	Negativo	Negativo
Foco	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
Fruta	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
Fresco	13-01	23-01	Normais	Negativo	Negativo
K5	13-01	21-01	Vestígios de unhas	Negativo	Negativo
Jerte x Jabaluna	13-01	20-01	Normais	Negativo	Negativo
Juromenha	13-01	23-01	Normais	Negativo	Negativo
Juncia	13-01	20-01	Normais	Negativo	Negativo
Hermes	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
N's Juromenha	13-01	20-01	Normais	Negativo	<b>Oocisto <i>Eimeria</i> sp.</b>
N's Artemisa	13-01	21-01	Normais	Negativo	Negativo
N's Fruta	13-01	23-01	Normais	Negativo	Negativo

Legenda:  
MA- macroscópica

**Anexo 7-** Registos das coprologias das presas vivas, mês de janeiro, 2017.

Nº Jaula	Colheita	Análise	Aspeto MA	Flutuação	Sedimentação
1	9-01	9-01	Normais	Negativo	Negativo
2	9-01	9-01	Normais	Negativo	Negativo
3	9-01	9-01	Normais	Negativo	Negativo
4	9-01	9-01	Normais	Negativo	Negativo
5	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
6	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
7	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
8	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
9	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
10	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
11	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
12	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
Sem coelhos na quarentena					
14	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
15	9-01	10-01	Normais	Negativo	Negativo
16	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
17	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
18	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
19	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
20	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
21	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo
22	9-01	11-01	Normais	Negativo	Negativo

## Anexo 8- Registos dos esfregaços sanguíneos 2016/17

Animal	Data do check-up	Método de Colheita	Coloração	Obs.
Éon: envio para o Centro de Zarza Granadilla.	16-11-2016	Punção da veia femoral	Diff-quick	Negativo
K5: castração unilateral do testículo esquerdo devido a criptorquidismo.	22-11-2016	Punção da veia femoral	Diff-quick	Negativo
N4 Fruta (Nebraska): colocação da coleira VHS	17-01-2017	Punção da veia safena.	Diff-quick	Negativo
N3 Fruta (Negro): colocação da coleira VHS	24-01-2017	Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
N1 Fruta (Noudar): colocação da coleira VHS	31-01-17 2	Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
N1 Juromenha (Noitibó): colocação da coleira VHS	31-01-17	Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
Fresco: electroejaculação para inseminação artificial (IA) da Juromenha	4-2-17	Punção da veia cefálica Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
Foco: electroejaculação para IA da Juromenha	4-2-17	Punção da veia safena Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
Juromenha: IA intrauterina com esperma de Foco e Fresco.	4-2-17	Punção da veia cefálica Punção da	Diff-quick	Negativo
N3 Artemisa (Névoa): colocação de coleira VHS	7-2-17	Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo
N1 Artemisa (Noz): colocação de coleira VHS	7-2-17	Punção da veia safena Punção da veia safena	Diff-quick	Negativo

Legenda:

Obs.- Observações

## Anexo 9- Registos dos tricogramas 2016/17.

Animal	Check-up	Método de Colheita	Obs.
N2 Juromenha (Nebulosa): colocação coleira VHS	11-10 -16	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
Éon: envio para o Centro de Zarza Granadilla.	16-11-16	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
Biznaga: check up anual	22-11-16	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N4 Fruta (Nebraska): check-up para colocação da coleira VHS	17-1-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N3 Fruta (Negro): check-up para colocação da coleira VHS	24-1-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N1 Juromenha (Noitibó): check-up para colocação da coleira VHS	31-1-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N1 Fruta (Natureza): check-up para colocação da coleira VHS	31-1-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
Juromenha: IA intrauterina com esperma de Foco e Fresco.	4-2-2017	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
Fresco: electroejaculação para inseminação artificial (IA) da Juromenha	4-2-2017	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N3 Artemisa (Névoa): check-up para colocação da coleira VHS	7-2-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N1 Artemisa (Noz): check- up para colocação da coleira VHS	7-2-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N3 Juromenha (Niassa): check-up para colocação da coleira VHS	8-2-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo
N2 Fruta (Noudar): check- up para colocação da coleira VHS	8-2-17	Tração do pelo com pinça mosquito	Negativo